

Untersuchungen zur photochemischen Stabilität mittels Durchflußreaktoren (hv-HPLC)

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

d o c t o r r e r u m n a t u r a l i u m

(Dr. rer. nat.)

im Fach Pharmazie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Apothekerin Suzan Parlar
geboren am 09.04.1970 in Berlin

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr J. Mlynek

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. B. Ronacher

Gutachter: 1. Prof. Dr. J.P. Surmann
2. Prof. Dr. R. Stößer

eingereicht am: 12.05.2000

Tag der mündlichen Prüfung: 27.09.2000

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. J.P. Surmann für die Überlassung des interessanten Themas und die stete Diskussionsbereitschaft.

Bedanken möchte ich mich weiterhin auch bei meinen Arbeitskreiskollegen für die anregenden Gespräche und die freundschaftliche und angenehme Atmosphäre.

Weiterhin danke ich all denen, die mich durch ihre Freundschaft und ihr Interesse in dieser Zeit unterstützt haben und folglich entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Inhaltsverzeichnis

1	1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG.....	1
2	2 THEORETISCHER TEIL	3
2.1	2.1 EINSATZ VON DURCHFLUß-PHOTOREAKTOREN	3
2.1.1	2.1.1 PHOTOCHEMISCHE UMSETZUNGEN IN DURCHFLUß-SYSTEMEN	3
2.1.2	2.1.2 AUFBAU UND KONSTRUKTIONSKRITERIEN	4
2.1.2.1	2.1.2.1 Auswahl der Reaktionsschleifen.....	5
2.1.2.2	2.1.2.2 Dispersionsprozesse in photochemischen Reaktoren.....	6
2.1.2.3	2.1.2.3 Verwendung verschiedener Strahlungsquellen	9
2.2	2.2 UNTERSUCHUNGEN DER PHOTOCHEMISCHEN STABILITÄT	10
2.2.1	2.2.1 CHARAKTERISIERUNG UND VERFOLGUNG PHOTOCHEMISCHER REAKTIONEN	10
2.2.2	2.2.2 BESTIMMUNG VON QUANTENAUSBEUTEN	11
2.2.3	2.2.3 BESTIMMUNG VON STRAHLUNGSINTENSITÄTEN MITTELS AKTINOMETRIE	12
2.2.4	2.2.4 KINETIK PHOTOCHEMISCHER REAKTIONEN	15
2.3	2.3 UV-FILTER.....	18
2.3.1	2.3.1 METHODEN DER PHOTOCHEMISCHEN STABILITÄTSUNTERSUCHUNGEN VON UV-FILTERN	18
2.3.2	2.3.2 ZUR PHOTOCHEMIE DER UNTERSUCHTEN UV-FILTER.....	19
2.3.2.1	2.3.2.1 4-Aminobenzoessäure und 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure- polyethoxyethylester	19
2.3.2.2	2.3.2.2 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon und 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5- sulfonsäure	20
2.3.2.3	2.3.2.3 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester.....	21
2.3.2.4	2.3.2.4 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester).....	22
2.3.2.5	2.3.2.5 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on	23
2.3.2.6	2.3.2.6 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion.....	23
2.3.2.7	2.3.2.7 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure.....	24
2.3.2.8	2.3.2.8 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat.....	24

3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	26
3.1	KONSTRUKTION EINES NEUEN DURCHFLUß-PHOTOREAKTORS.....	26
3.1.1	ALLGEMEINER AUFBAU	26
3.1.2	VERGLEICH MIT HANDELSÜBLICHEN REAKTOREN	29
3.1.3	INTEGRATION DES PHOTOREAKTORS IN EIN MEßSYSTEM	29
3.2	VERGLEICH VON STRAHLUNGSINTENSITÄTEN IM DURCHFLUß	31
3.2.1	METHODE UND AUSWAHLKRITERIEN DER AKTINOMETRISCHEN MESSUNGEN	31
3.2.2	BESTIMMUNG DER BESTRAHLUNGSZEITEN	33
3.2.2.1	Methode.....	33
3.2.2.2	Bestimmung der Verweilzeiten ohne Integration der Reaktionsschleifen	35
3.2.2.3	Bestimmung der Verweilzeiten nach Integration der Reaktionskapillaren	38
3.2.2.3.1	Veränderung der Fließgeschwindigkeit	38
3.2.2.3.2	Veränderung der Form und Art der Reaktionsschleifen	39
3.2.2.3.3	Unterbrechen der Pumpentätigkeit.....	46
3.2.2.3.4	Einfluß der Temperatur	47
3.2.2.4	Vergleich der eingesetzten Reaktionsschleifen	48
3.2.3	BESTIMMUNG DER STRAHLUNGSINTENSITÄTEN	50
3.2.3.1	Berücksichtigung der Verhältnisse im Durchfluß	50
3.2.3.2	Vergleichende Untersuchungen der absorbierten Strahlungsintensitäten	54
3.2.3.2.1	Einbrenndauer der Strahler	54
3.2.3.2.2	Position der Kapillare	55
3.2.3.2.3	Material der Reaktionsschleife.....	55
3.2.3.2.4	Einsatz der Kühlung.....	57
3.2.3.2.5	Einsatz von Reflexionsmaterialien.....	58
3.2.3.2.6	Art und Form der Reaktionsschleifen	58
3.2.3.2.7	Lebensdauer der Strahlungsquelle	59
3.2.3.2.8	Art des photochemischen Reaktors.....	59
3.2.3.2.9	Vergleich mit der stationären Bestrahlung.....	60
3.2.3.3	Abschätzung der eingestrahnten Lichtintensität.....	62
3.2.3.3.1	Hoher Konzentrationsbereich	62
3.2.3.3.2	Niedriger Konzentrationsbereich	66
3.2.3.3.3	Vergleich mit Tageslicht.....	70

3.3 BESTRAHLUNG VOR DER CHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG:

UNTERSUCHUNGEN ZUR PHOTOSTABILITÄT	73
3.3.1 METHODE	73
3.3.1.1 Fließinjektionsanalyse.....	73
3.3.1.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	76
3.3.2 4-METHOXY-ZIMTSÄURE-2-ETHYL-HEXYLESTER	78
3.3.2.1 Fließinjektionsanalyse.....	78
3.3.2.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	79
3.3.3 3-(4'-METHYL)BENZYLIDEN-BORNAN-2-ON	83
3.3.3.1 Fließinjektionsanalyse.....	83
3.3.3.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	84
3.3.4 1-(4-TERT.-BUTYLPHENYL)-3-(4-METHOXYPHENYL)PROPAN-1,3-DION	88
3.3.4.1 Fließinjektionsanalyse.....	88
3.3.4.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	90
3.3.5 4-AMINOBEZOESÄURE	95
3.3.5.1 Fließinjektionsanalyse.....	97
3.3.5.1.1 UV-Detektion	97
3.3.5.1.2 Amperometrische Detektion.....	101
3.3.5.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	102
3.3.5.2.1 UV-Detektion	103
3.3.5.2.2 Amperometrische Detektion.....	112
3.3.5.2.3 Fluorimetrische Detektion	113
3.3.6 2-CYAN-3,3-DIPHENYL-ACRYLSÄURE(2-ETHYL-HEXYLESTER).....	115
3.3.7 2-HYDROXY-4-METHOXY-BENZOPHENON	116
3.3.8 2-HYDROXY-4-METHOXYBENZOPHENON-5-SULFONSÄURE.....	117
3.3.9 3,3,5-TRIMETHYL-CYCLOHEXYL-SALICYLAT	118
3.3.10 2-PHENYLBENZIMIDAZOL-5-SULFONSÄURE.....	120
3.3.11 4-BIS(POLYETHOXY)AMINOBEZOESÄURE-POLYETHOXYETHYLESTER	121
3.3.12 4-ACETAMIDOBENZOESÄURE	123
3.3.12.1 Fließinjektionsanalyse.....	123
3.3.12.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	125
3.3.12.2.1 UV-Detektion.....	125
3.3.12.2.2 Amperometrische Detektion	126
3.3.12.2.3 Fluorimetrische Detektion	126

3.4 BESTRAHLUNG NACH DER CHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG:

OPTIMIERUNG ANALYTISCHER VERFAHREN.....	128
3.4.1 OPTIMIERUNG VON PARAMETERN	129
3.4.1.1 Empfindlichkeit.....	129
3.4.1.2 Linearität	131
3.4.1.3 Nachweisgrenze	137
3.4.1.4 Selektivität.....	138
3.4.2 KALIBRIERUNG	139
3.4.2.1 Prüfung der Voraussetzungen zur Anwendung der linearen Regression	140
3.4.2.1.1 Fehlerfreiheit der Variablen x	140
3.4.2.1.2 Linearität	140
3.4.2.1.3 Normalverteilung	141
3.4.2.1.4 Varianzenhomogenität	141
3.4.2.2 Lineare Regression	142

4 EXPERIMENTELLER TEIL.....145

4.1 MATERIALIEN UND GERÄTE	145
4.1.1 CHEMIKALIEN	145
4.1.2 UNTERSUCHTE UV-FILTER.....	146
4.1.3 GERÄTE UND ARBEITSBEDINGUNGEN	147
4.1.3.1 Photochemische Durchfluß-Reaktoren.....	147
4.1.3.2 UV-Spektroskopie.....	148
4.1.3.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie	148
4.2 BESTIMMUNG DER BESTRAHLUNGSZEITEN	149
4.2.1 BESTIMMUNG DER VERWEILZEITEN IM SYSTEM OHNE KAPILLAREN	149
4.2.2 BESTIMMUNG DER DISPERSIONSKOEFFIZIENTEN DURCH DAS EINFÜHREN VON WINDUNGEN	150
4.2.3 BESTIMMUNG DER VERWEILZEITEN IM GESAMTSYSTEM.....	150
4.2.4 EINFLUß DES UNTERBRECHENS DER PUMPENTÄTIGKEIT AUF DIE PEAKFORM.....	150
4.2.5 EINFLUß DER TEMPERATUR	150
4.2.6 VERGLEICH DER EINGESETZTEN REAKTIONSSCHLEIFEN.....	151

4.3	AKTINOMETRISCHE BESTIMMUNG VON STRAHLUNGSINTENSITÄTEN	152
4.3.1	LÖSUNGEN	152
4.3.2	BESTIMMUNG DES ABSORPTIONSKOEFFIZIENTEN DES O-PHENANTHROLIN-KOMPLEXES	152
4.3.3	VORBEREITUNG DER AKTINOMETERLÖSUNG.....	153
4.3.4	INTENSITÄTSMESSUNGEN	153
4.3.4.1	Stationäre Bestrahlung	153
4.3.4.2	Bestrahlung im Durchfluß.....	153
4.3.4.3	Abschätzung der Einstrahlintensität.....	155
4.4	UNTERSUCHUNGEN ZUR PHOTOSTABILITÄT VON UV-FILTERN	157
4.4.1	UV-SPEKTREN	157
4.4.2	FLIEßINJEKTIONSANALYSE	158
4.4.3	HOCHDRUCKFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE	160
4.5	OPTIMIERUNG ANALYTISCHER VERFAHREN	164
4.5.1	FLIEßINJEKTIONSANALYSE	164
4.5.2	HOCHDRUCKFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE	164
4.5.2.1	Einfluß der Temperatur	164
4.5.2.2	Einfluß der Konzentration und des Arbeitspotentials	165
4.5.2.3	Einfluß einer Matrix.....	165
4.5.2.4	Kalibrierung	165
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</u>	<u>167</u>
6	<u>ANHANG.....</u>	<u>171</u>
7	<u>SYMBOLE UND ABKÜRZUNGEN.....</u>	<u>196</u>
8	<u>LITERATURVERZEICHNIS.....</u>	<u>199</u>

1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Im Jahre 1947 entwickelten Brodie *et al.* [1] ein photochemisches Verfahren, um das natürlich fluoreszierende Chloroquin in ein anderes fluoreszierendes Produkt umzuwandeln, da die Anregungswellenlänge des Chloroquins selbst nicht der starken Emissionslinie des Quecksilbers entsprach. Damit war die Basis für photochemische Umsetzungen zur Verbesserung analytischer Verfahren geschaffen. In den 60er Jahren berichteten Goodyear und Jenkinson [2] von einer hoch selektiven und empfindlichen Methode zur Bestimmung von Diethylstilbestrol nach UV-Bestrahlung mit einer Quecksilber-Hochdrucklampe.

Das Prinzip der on-line Bestrahlung, insbesondere in Verbindung mit der Hochdruck-flüssigkeitschromatographie (HPLC), wurde als erstes von Iwaoka und Tannenbaum [3] 1976 angewendet. Nach Bestrahlung von N-Nitroso-Verbindungen erfolgte die Bestimmung des gebildeten Nitrits mittels Griess-Reaktion. Die Bestrahlungszeit war jedoch relativ lang und die Empfindlichkeit nicht sehr hoch. Vielversprechender waren die Arbeiten von Twitchett *et al.* [4], die Cannabinol in Körperflüssigkeiten nach Bestrahlung empfindlich und hoch selektiv bestimmten.

Mittlerweile sind Photoreaktoren, die on-line in ein HPLC-System geschaltet werden können, käuflich zu erwerben. Ausgehend von diesen handelsüblichen Durchfluß-Reaktoren, die im allgemeinen nur zur Optimierung analytischer Verfahren eingesetzt werden, sollte ein neuer Durchfluß-Photoreaktor mit erweiterten Einsatzmöglichkeiten und größerer Variabilität konstruiert und getestet werden.

Der Photoreaktor sollte, wie auch die käuflichen Reaktoren, nach der Trennsäule in ein HPLC-System integrierbar sein (HPLC- $h\nu$) und damit zur Verbesserung der Empfindlichkeit oder Selektivität analytischer Methoden beitragen können. Durch die seit kurzem käuflich erhältlichen hochdruckstabilen Reaktionsschleifen [Firma ICT, Frankfurt] sollte aber auch eine Bestrahlung vor der Trennsäule ($h\nu$ -HPLC) mit anschließender Chromatographie möglich sein. Dies würde die Voraussetzung schaffen, Substanzen on-line zu bestrahlen und mögliche Photoprodukte anschließend direkt zu chromatographieren und zu detektieren. Ergebnisse der $h\nu$ -HPLC Untersuchungen sollten weiterhin Aussagen über die photochemische Stabilität der Ausgangsverbindungen ermöglichen, wobei photochemische Stabilitätsuntersuchungen bisher nicht on-line durchgeführt wurden.

Ziel war es, eine möglichst schnelle, preiswerte und ohne großen apparativen Aufwand durchführbare Methode zu entwickeln, um den photochemischen Abbau von Substanzen

durch UV-Strahlung verfolgen zu können. Die gewonnenen Erkenntnisse über den Abbau dieser Verbindungen sollten Aussagen über deren Photostabilität ermöglichen, aber auch zur Optimierung analytischer Verfahren unter Umständen wertvoll sein.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit sollten die Konstruktionskriterien eines für die oben genannten Zwecke geeigneten Durchfluß-Photoreaktors aufgezeigt und die besonderen Bedingungen der photochemischen Umsetzungen in Durchfluß-Systemen dargelegt werden. Die Verwendung von chemischen Aktinometer-Lösungen - eine für stationäre Bestrahlungen gängige Methode zur Bestimmung von Strahlungsintensitäten [5] - wurde ausgewählt, um vergleichende Untersuchungen bezüglich der Strahlungsintensitäten unter Variation relevanter Parameter durchzuführen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit sollte die Leistungsfähigkeit des Photoreaktors anhand von Modellsubstanzen, zehn durch die Kosmetikverordnung der EU zugelassenen UV-Filtern, überprüft werden. Diese Substanzgruppe erfordert besonders aufgrund ihres Einsatzes in Sonnenschutzmitteln eine hohe Photostabilität. Photoprodukte mit eventuell unerwünschten Wirkungen oder Wirksamkeitsverluste durch UV-Strahlung sollten minimiert bzw. ausgeschlossen werden können.

Durch Integration des Reaktors in ein Fließinjektionsanalyse (FIA)-System mit anschließender amperometrischer und photometrischer Detektion sollte ein schnelles Screening erfolgen. Eventuelle Photoprodukte sollten nach Bestrahlung in hochdruckstabilen Reaktionsschleifen chromatographisch getrennt werden. Dabei sollte weiterhin die Variation diverser Parameter, wie der Bestrahlungszeit, der Temperatur, des pH-Wertes und des Einstrahlungsspektrums der Strahlungsquelle möglich sein. Anhand von Vergleichssubstanzen wäre zudem eine Charakterisierung der Photoprodukte denkbar.

Im dritten Teil der vorliegenden Arbeit sollten die durch die Bestrahlung vor der Trennsäule gewonnen Erkenntnisse, falls möglich, für die Optimierung analytischer Verfahren genutzt werden. In diesem Falle sollte die Integration des Reaktors in der üblichen Art- und Weise wieder nach der Trennsäule erfolgen (HPLC- $h\nu$).

2 THEORETISCHER TEIL

2.1 Einsatz von Durchfluß-Photoreaktoren

2.1.1 Photochemische Umsetzungen in Durchfluß-Systemen

Durchfluß-Photoreaktoren werden in der Regel zur Optimierung analytischer Verfahren eingesetzt, wobei die Erhöhung der Empfindlichkeit oder Selektivität im Vordergrund steht. Bei der Nachsäulen-Bestrahlung (post-column photochemical reaction, Abbildung 1) werden die Reaktoren on-line nach der Trennsäule in ein HPLC-System geschaltet. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Integration der Reaktoren in ein FIA-System, wobei hier die Probe ohne vorangegangene chromatographische Trennung in einem Trägerstrom bestrahlt wird (Abbildung 1, ohne Säule).

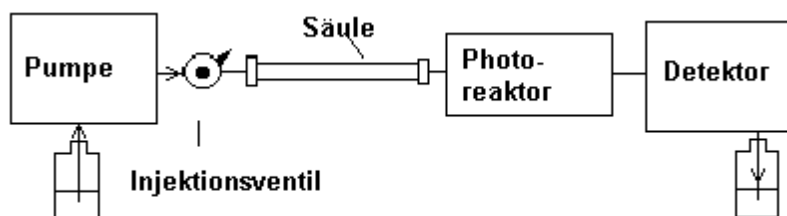


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines HPLC-Systems mit integriertem Photo-reaktor für die photochemische Bestrahlung nach der Trennsäule

Nach der photochemischen Umsetzung, ohne oder nach Auftrennung der Proben, erfolgt die Detektion. Eingesetzt werden in erster Linie die elektrochemische (HPLC- $h\nu$ -ECD) [6,7] und fluorimetrische Detektion [8,9], in geringerem Umfang auch die UV-Detektion (HPLC- $h\nu$ -UVD) [10,11].

Bei der photochemischen Reaktion kann der Analyt direkt, entweder durch Photolyse oder durch photochemische Umlagerungen bzw. Umwandlungen, in *besser detektierbare* Verbindungen umgesetzt werden. Indirekte Methoden basieren entweder auf der Absorption des Analyten mit der Folge, daß sich zugesetzte Substanzen umwandeln, oder auf den Einsatz von Photosensibilisatoren, die ihrerseits Strahlung absorbieren [12]. Weiterhin kann eine photochemische Umwandlung in *nicht detektierbare* Verbindungen

die Selektivität einer Methode erhöhen. Ist die Substanz nach der photochemischen Umsetzung nicht mehr zu detektieren, können eventuelle störende Matrixbestandteile erkannt bzw. deren Fehlen bestätigt werden.

Umsetzungen durch photochemische Reaktionen besitzen gegenüber herkömmlichen Derivatisierungsmethoden einige Vorteile. Sie sind im allgemeinen sehr selektiv in bezug auf den Analyten, da sowohl die Fähigkeit zur Absorption als auch die Fähigkeit zur photochemischen Reaktion notwendige Voraussetzungen sind. Eine Verdünnung des Analyten durch Zusatz von Lösungsmitteln und Reagenzien tritt nicht auf. Weitere Pumpen oder Mischkammern sind nicht notwendig. Strahlungsquellen unterliegen in der Regel seltener Stabilitätsproblemen, wie sie mit chemischen Derivatisierungsreagenzien oftmals auftreten. Die Auswahl des Fließmittels ist nicht durch die Reagenzienlöslichkeit limitiert. Schließlich sind photochemische Reaktionen oftmals schnell verlaufende Reaktionen, so daß die Verweilzeit im Reaktor kurz gehalten werden kann.

Das Interesse, die entstehenden Photoprodukte auch durch den on-line Einsatz näher zu charakterisieren, nimmt zu, wobei die Reaktoren dabei konventionell entweder in einem FIA-System oder nach der chromatographischen Trennung eingesetzt werden. Durch die Variation der Detektoren, wobei neben den gängigen Detektoren auch die Elektronenspinresonanzspektroskopie ($h\nu$ -ESR) [13] und die Massenspektroskopie (LC- $h\nu$ -MS) [14] eingesetzt wurden, konnten dabei Rückschlüsse auf die Eigenschaften der Substanzen gezogen werden.

Bestrahlungen vor der Trennsäule zur photochemischen Stabilitätsuntersuchung sind jedoch bisher nicht beschrieben worden.

2.1.2 Aufbau und Konstruktionskriterien

Die Reaktorkonstruktionen für photochemische Reaktionen im Durchfluß sind je nach Entwicklungsstand und Art der Anwendung sehr vielfältig. Die photochemischen Umsetzungen in Durchfluß-Reaktoren erfolgen in Reaktionskapillaren bzw. -schleifen, die sich entweder neben der Lampe befinden oder direkt um die Lampe gezogen werden (siehe Abbildung 2).

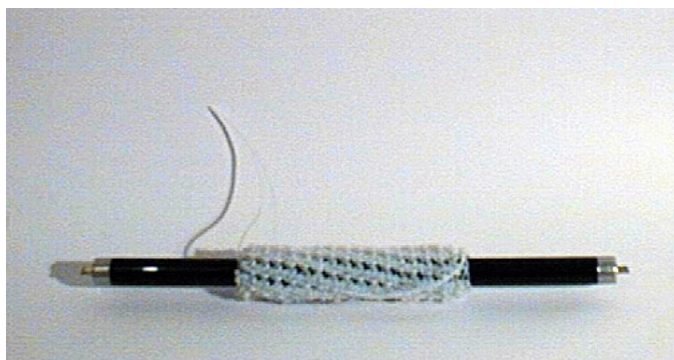


Abbildung 2: UV-A-Strahler (Philipps) mit Reaktionskapillare (Länge $l = 10$ m, Innendurchmesser $ID = 0,3$ mm; Firma ICT, Frankfurt)

Besondere Aufmerksamkeit gilt der Auswahl der Bestrahlungsschleifen, der Vermeidung von Peakverbreiterungen durch Dispersionsprozesse im photochemischen Reaktor und der Verwendung verschiedener Strahlungsquellen.

2.1.2.1 Auswahl der Reaktionsschleifen

Bisher sind Bestrahlungsschleifen aus Quarz, Pyrex oder PTFE (Teflon, Polytetrafluorethylen) eingesetzt worden [12]. Sie werden mittels Kupplungsstücken in das chromatographische System integriert. Reaktionskapillaren aus Pyrex oder Quarz sind aufgrund ihrer Zerbrechlichkeit schlecht zu handhaben. Weiterhin ist der Einsatz von Pyrex für die organische Photochemie begrenzt, da Wellenlängen unter 320 nm gefiltert werden. Die Verwendung von Kapillaren aus PTFE ist von Vorteil sowohl hinsichtlich der Integrierbarkeit in das System als auch in Hinblick auf die Durchlässigkeit von UV-Strahlung [15]. Die direkte Transmission von UV-Strahlung durch Teflon ist nicht sehr effizient, vermutet wird ein diffuser Strahlungstransfer oder ein Strahlungstransfer durch Poren der Reaktionsschleife [15,16]. Durch den sogenannten „light pipe“ Effekt, ein multipler interner Reflexionsmechanismus, könnte der effektive Photonenflux weiterhin gesteigert werden [15].

Teflonschläuche sind flexibel, haltbar und relativ kostengünstig. Sie sind aber in der Regel nicht hochdruckstabil, so daß sie nur nach der Säule eingesetzt werden können. Erst seit kurzer Zeit sind hochdruckstabile Reaktionsschleifen im Handel [Firma ICT, Frankfurt], so daß der Photoreaktor auch vor die Trennsäule in das HPLC-System geschaltet werden kann. Zur Zeit sind jedoch Angaben über das verwendete Material der hochdruckstabilen Reaktionsschleifen vom Hersteller nicht erhältlich.

2.1.2.2 Dispersionsprozesse in photochemischen Reaktoren

Die Peakverbreiterung in photochemischen Reaktoren sollte minimiert werden, um die Trennleistung der HPLC nicht zu beeinträchtigen. Die injizierte Probenlösung unterliegt physikalischen Prozessen (Diffusion, Konvektion), die im allgemeinen als Dispersion bezeichnet werden. In Abhängigkeit von der Aufenthaltsdauer verändert sich dadurch das Peakprofil (Abbildung 3):

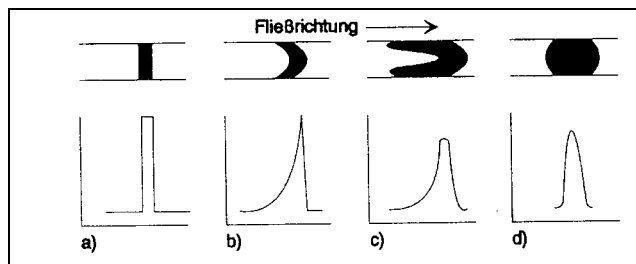


Abbildung 3: Einfluß der Dispersion auf das Konzentrationsprofil nach [17]

- a) ohne Dispersion
- b) konvektionsbedingt
- c) konvektions- und diffusionsbedingt
- d) diffusionsbedingt

Nach der Injektion des Bolus ist der konvektive Transport in röhrenförmigen Reaktoren der bestimmende. Das Zonenprofil ist typisch parabolisch. Die Zeit des Eintreffens t_e entspricht in der Praxis der Verweilzeit T_{\max} (Zeit, die dem Peakmaximum entspricht) - dargestellt in Abbildung 3b). Dieser Fall tritt nur auf, wenn t_e sehr klein ist. Nach kurzer Zeit steigt der Anteil der Diffusion an. Damit wird die Differenz $t' = T_{\max} - t_e$ signifikant und die Peaks besitzen ein tailing. Wenn die Zeit lang genug ist, wird das Peakprofil praktisch gaussförmig. Es gilt dann:

$$t' = T_{\max} - t_e = \Delta t / 2$$

Gleichung 1: Δt : Zeit [s], die der Bolus benötigt, um den Detektor zu passieren; T_{\max} : Zeit [s], die dem Peakmaximum entspricht; t_e : Zeit des Eintreffens [s]; nach [19]

Die mittlere Verweilzeit T beträgt:

$$T = \frac{l}{u} = \frac{\pi \cdot r^2 \cdot l}{F}$$

Gleichung 2: r : Radius der Röhre [cm]; l : Länge der Strecke [cm], F : Fließgeschwindigkeit [$\text{mL} \cdot \text{s}^{-1}$]; T : mittlere Verweilzeit [s]; u : lineare Fließgeschwindigkeit [$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$]; nach [20]

Bedingt durch das Strömungsprofil ergibt sich in schmalen Röhren eine axiale Dispersion der Probenzone (Konvektion). Diffusion erfolgt sowohl in axialer als auch in radialer Richtung, wobei Diffusion in radialer Richtung der Ausbreitung der Probenzone entgegensteuert. In der Praxis tritt damit unter laminaren Strömungsbedingungen eine Kombination von axialer Konvektion und radialer Diffusion (Abbildung 4) auf. Die axiale Diffusion ist in der Regel vernachlässigbar [18].

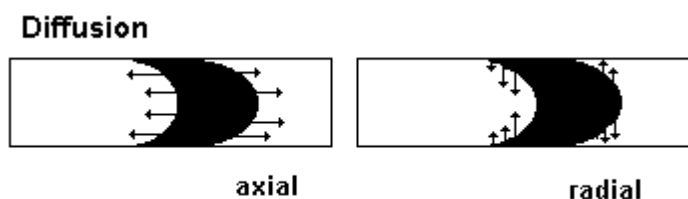


Abbildung 4: Schematische Darstellung der axialen und radialen Diffusion in geschlossenen Röhren nach [18].

Die Größe der Dispersion kann durch den Dispersionskoeffizienten charakterisiert werden, wobei gilt:

$$D = \frac{c^0}{c^{\max}}$$

Gleichung 3: Definition des Dispersionskoeffizienten nach [20]; c^0 : ursprüngliche Konzentration der injizierten Probe; c^{\max} : Konzentration im Volumenelement der dispergierten Probenzone, das dem Signalmaximum entspricht.

Es sind bisher diverse Modelle zur Bestimmung des allgemeinen Ausdrucks $c = f(t)$, (c : Konzentration [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]; t : Zeit [s]), für das Signalprofil in schmalen Röhren aufgestellt worden. Basierend auf den Arbeiten von Taylor [21], der die Kombination von molekularer Diffusion und dem parabolischen Profil unter laminaren Flußbedingungen durch eine Diffusions-Konvektionsgleichung beschrieben hat, sind weitere theoretische Modelle entwickelt worden. Sie sind empirischer Natur und mit Ungenauigkeiten behaftet, da es problematisch ist, die Dispersion der Injektion, der Verbindungsstücke und der Verlauf der Reaktionsstrecke zu berücksichtigen. Die gesamte Peakverbreiterung in einem FIA-System ist die Summe der Peakverbreiterungen in den einzelnen Teilen des Systems und kann als Peakvarianz σ^2 beschrieben werden.

$$\sigma_{\text{gesamt}}^2 = \sigma_{\text{Injektion}}^2 + \sigma_{\text{Fließsystem}}^2 + \sigma_{\text{Detektor}}^2$$

Gleichung 4: Summe der Varianzen in den einzelnen Teilen des Systems, nach [20]

Für röhrenförmige Reaktoren wurde von Deelder *et al.* [22] eine Gleichung zur Berechnung der Dispersion als Varianz des Volumens aufgestellt:

$$\frac{\Delta\sigma_v^2}{T} = \frac{\kappa d^2}{96D} F^2$$

Gleichung 5: $\Delta\sigma_v^2$: Varianz des Volumens [mL^2]; T : Verweilzeit (residence time) [min]; D : Diffusionskoeffizient des Analyten in der mobilen Phase [$\text{cm}^2\text{min}^{-1}$]; F : Fließgeschwindigkeit [$\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$]; d : Innendurchmesser der Röhre [cm]; κ : Korrekturfaktor

Je höher die Fließgeschwindigkeit F und der Innendurchmesser d der Kapillare, desto größer ist die Varianz des Volumens. Weiterhin ist die Varianz proportional der Aufenthaltszeit T und damit der durchlaufenden Strecke l für eine konstante Fließgeschwindigkeit F . Um vergleichbare Meßergebnisse zu erhalten, sollte die Dispersion reproduzierbar sein (Konzept der kontrollierten Dispersion). Der Korrekturfaktor κ berücksichtigt Abweichungen vom laminaren Flußprofil.

Da die Reaktionsschleifen in Photoreaktoren meist gewickelt oder gehäkelt sind, ist der Fluß nicht perfekt laminar. Die Dispersion kann durch Windungen in der Kapillare herabgesetzt werden, da die entstehenden Zentrifugalkräfte einen radialen Massentransport induzieren, der der Aufweitung der Probenzone entgegenwirkt.

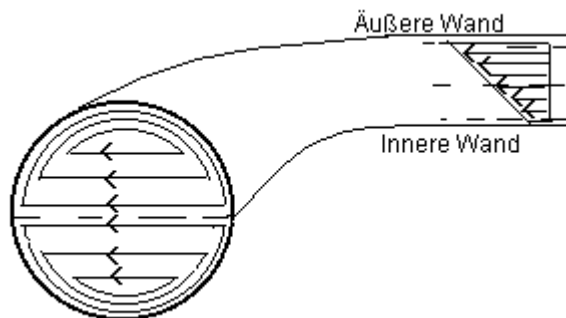


Abbildung 5: Entstehung des „secondary-flow“

Dieser Effekt wird als "secondary flow" (radialer Massentransport durch Zentrifugalkräfte) bezeichnet und ist bereits theoretisch vorhergesagt und durch experimentelle Versuche bestätigt worden [23,24]. Das radiale Mischen kann durch die Verringerung des Innendurchmessers der Kapillaren wie auch der Windungen vergrößert werden. H. Engelhardt und U.D. Neue [25] zeigten, daß durch die dreidimensionale Verknüpfung einer PTFE-Kapillare die Peakverbreiterung auch bei geringen Fließgeschwindigkeiten minimiert werden kann. Die derzeit eingesetzten Reaktionskapillaren sind daher gewickelt,

verknötet oder gehäkelt und ermöglichen durch ihre Kompaktheit zudem eine bessere Handhabbarkeit. Ein mathematisches Modell zur Berechnung des Konzentrationsprofils steht für gehäkelte Kapillaren zur Zeit nicht zur Verfügung.

2.1.2.3 Verwendung verschiedener Strahlungsquellen

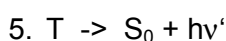
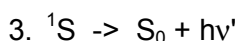
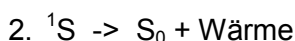
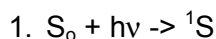
Als Auswahlkriterien für die bisher eingesetzten Strahlungsquellen gelten Lampenintensität, Wellenlängen der emittierten Strahlung, Wärmeentwicklung, eventuelle Ozonproduktion und Kosten.

Oftmals sind Hochdruck- oder Mitteldruck-Dampflampen mit einer Leistung zwischen 100 bis 500 W verwendet worden [12]. Im allgemeinen handelt es sich um Quecksilber-Strahler, Xenon-Strahler oder Strahler, die eine Mischung der beiden Elemente enthalten. Quecksilber-Hochdrucklampen emittieren über das gesamte UV-vis Spektrum mit 11 starken Linien zwischen 270 bis 600 nm. Aufgrund von Selbstabsorption fehlt die 254 nm Linie, während sie bei Xenon Lampen vorhanden ist. Diese besitzen eine geringere kontinuierliche Emission in fast dem gesamten UV-Bereich und fallen bei kurzen Wellenlängen (200 - 250 nm) eher allmählich ab. Eine Mischung der beiden führt zu charakteristischen Linien beider Elemente. Die Emission eines großen Anteils an Infrarot-Strahlung bedingt den Einsatz einer Wasserkühlung. Wird der Druck in der Strahlungsquelle herabgesetzt, dominiert die Linienemission. Quecksilber-Niederdruckstrahler emittieren mehr als 80 % ihrer Strahlung in Form der 254 nm Quecksilberlinie. Niederdruckstrahler sind mit einer Vielzahl von spektralen Charakteristika erhältlich. Beispielsweise emittieren Schwarzlichtlampen ein Breitbandspektrum mit einem Maximum bei 366 nm. Sie zeichnen sich durch geringe Erwärmung aus und sind im Vergleich zu den Hochdrucklampen kostengünstiger.

2.2 Untersuchungen der photochemischen Stabilität

2.2.1 Charakterisierung und Verfolgung photochemischer Reaktionen

Photochemische Reaktionen werden durch die Absorption von sichtbarem oder ultraviolettem (UV) Licht ausgelöst. Lichtabsorption führt zur Veränderung der Elektronenkonfiguration, d.h. zum Übergang in einen angeregten Molekülzustand. Ein Molekül absorbiert Licht nur, wenn eine Absorptionsbande existiert, die zu einem gewissen Anteil mit der eingestrahlten Lichtenergie überlappt (Grundgesetz von Grotthus und Draper). Im relevanten Chromophor wird ein Valenzelektron zum ersten angeregten Zustand (1S), der spingleich dem Grundzustand (S_0) ist, angehoben (Gleichung 1.). Die Rückkehr zum Grundzustand kann durch interne Konversion, d.h. durch strahlungslose Deaktivierung erfolgen (Gleichung 2.). Alternativ kann die Rückkehr zum Grundzustand durch Fluoreszenzemission von Licht mit geringerer Energie erfolgen (Gleichung 3.). Der Übergang in den Triplettzustand (T) wird durch Gleichung 4. ausgedrückt. Von diesem kann die Rückkehr zum Grundzustand durch Abgabe von Strahlung (Phosphoreszenz, Gleichung 5.) oder durch strahlungslose Deaktivierung eintreten.



Photochemische Reaktionen können von 1S oder T aus erfolgen. Es handelt sich dabei hauptsächlich um Isomerisierungen, photolytische Spaltungsreaktionen, Substitutions- und Additionsreaktionen, Umlagerungen, Redoxreaktionen sowie radikalische Kettenreaktionen.

Laborapparaturen für photochemische Reaktionen sind vielfältig, wobei grundsätzlich zwischen Apparaturen zur präparativen Synthese von Stoffen und Apparaturen für photochemische Messungen unterschieden werden kann [5].

Ziel der photochemischen Synthese ist vor allem eine hohe Ausbeute. Der Umsatz kann durch einfache Außenbestrahlung erfolgen, wobei die Strahlung von einer neben dem Reaktionsgefäß angebrachten Strahlungsquelle in den Reaktor eintritt. Eingesetzt werden

weiterhin Reaktoren mit Tauchbrennern, die in die zu untersuchende Lösung eingetaucht werden und dadurch einen hohen Wirkungsgrad besitzen.

Ziel photochemischer Messungen ist die Bestimmung von Quantenausbeuten und die Verfolgung der Kinetik photochemischer Reaktionen, worauf in den folgenden Kapiteln näher eingegangen werden wird.

2.2.2 Bestimmung von Quantenausbeuten

Die Quantenausbeute ist eine experimentelle Größe, die das Verhältnis der Anzahl umgesetzter Moleküle n_A zur Anzahl absorbierter Lichtquanten definierter Energie n_Q wiedergibt [5].

$$\Phi_A = -\frac{n_A}{n_Q}$$

Gleichung 6: Φ_A : summarische Quantenausbeute; n_A : Anzahl umgesetzter Moleküle; n_Q : Anzahl absorbierter Lichtquanten

Φ_A stellt die summarische Quantenausbeute dar, d.h. es wird nicht zwischen Primär- und Sekundärvorgängen unterschieden. Aus kinetischen Experimenten erhält man die „momentane“ bzw. „differentielle“ Quantenausbeute ϕ_A als Verhältnis der Geschwindigkeiten für den Stoffumsatz und für die Lichtabsorption:

$$\phi_A = \frac{dn_A/dt}{dn_Q/dt} = \frac{dn_A/dt}{I_{abs}} = \frac{dc_A/dt}{I_{abs}/V_R} = \frac{dc_A/dt}{I_a}$$

Gleichung 7: I_{abs} : Quantenstrom (Flux) [mol Photonen·s⁻¹]; I_a : Quantenstromkonzentration I_{abs}/V_R [mol Photonen·s⁻¹·L⁻¹]; V_R : Reaktionsvolumen [L]; c_A : Konzentration [mol·L⁻¹] nach [5]

Integration der differentiellen Quantenausbeute nach der Zeit liefert die *integrale* Quantenausbeute:

$$\frac{\int_{c_0}^{c_t} dc}{\int_0^t I_a dt} = \frac{c_t - c_0}{I_a \cdot t} = \Phi$$

Gleichung 8: t : Zeit [s]; c_0 : Konzentration [mol·L⁻¹] zur Zeit $t = 0$ s; c_t : Konzentration [mol·L⁻¹] zur Zeit t nach [5]

Sie stimmt mit der summarischen Quantenausbeute überein, wenn im Verlauf der Photoreaktion keine Änderungen im Mechanismus und den Absorptionsverhältnissen eintreten.

Voraussetzung der Bestimmung von Quantenausbeuten ist die Messung der absorbierten Strahlungsintensität und der Reaktionszeit, sowie die Bestimmung der Konzentrationen der an der Photoreaktion beteiligten Stoffe. In der Regel wird monochromatische Strahlung verwendet, da dies lediglich die Kenntnis der Strahlungsintensität bei der Emissionswellenlänge erfordert. Für polychromatische Strahlungsquellen hingegen muß die Spektralflußverteilung bekannt sein, die Berechnung kann dabei in Wellenlängenabschnitten durchgeführt werden. Die Bestimmung ist daher relativ zeitaufwendig und läßt eventuelle Abhängigkeiten der Quantenausbeute von der Wellenlänge unberücksichtigt.

2.2.3 Bestimmung von Strahlungsintensitäten mittels Aktinometrie

Aufgrund der Variabilität der experimentellen Anordnungen basieren photochemische Studien oftmals auf der Messung von relativen Lichtintensitäten. Die nach einer bestimmten Bestrahlungszeit photochemisch abgebaute Substanzmenge kann damit innerhalb der gegebenen experimentellen Parameter reproduziert werden, ist eventuell aber nicht mit derjenigen vergleichbar, die mit einer anderen Apparatur oder Lampe erhalten wurde. So kann die Lichtintensität an einem bestimmten Punkt mit Hilfe eines Radiometers, das aus einer Photozelle und einer Reihe von für bestimmte Wellenlängen durchlässigen Filtern besteht, gemessen werden. Angegeben werden Bestrahlungsstärken in $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ oder $\text{J} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$.

Für absolute Bestimmungen des Ausmaßes einer Photoreaktion muß die Anzahl Moleküle, die pro absorbiertes Photon reagieren, berechnet werden. Die Intensität der absorbierten Strahlung wird gewöhnlich mit chemischen Aktinometern bestimmt. Die Einheit der Strahlungsintensität ist Einstein/s oder Es/s, wobei gilt [5]:

$$1 \cdot \text{Einstein} = N_i \cdot h\nu = \frac{N_i \cdot h \cdot c}{\lambda} = \frac{119700}{\lambda} \text{ kJ}$$

Gleichung 9: N_i : Loschmidt-Zahl $6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$, h : Plancksches Wirkungsquantum $6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$, ν : Frequenz [s^{-1}], c : Lichtgeschwindigkeit $300000 \cdot 10^{12} \text{ nm} \cdot \text{s}^{-1}$, λ : Wellenlänge [nm], J: Joule

Chemische Empfänger (Aktinometer) sind integrierende Empfänger, in denen die Strahlungsmenge durch den Stoffumsatz einer chemischen Reaktion bestimmt wird [5]. Voraussetzung für aktinometrische Messungen ist eine bekannte Quantenausbeute für

den jeweiligen Spektralbereich. Angaben über gebräuchliche Aktinometer sind im Folgenden zusammengefaßt:

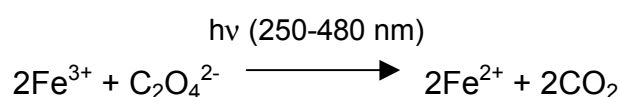
Tabelle 1: Auswahl einiger gebräuchlicher Aktinometer unter Angabe des jeweiligen Spektralbereiches, der analytischen Methode und entsprechender Literaturverweise

Aktinometer	Wellenlänge oder Spektral- bereich [nm]	Reaktion	Analytische Methode	Literatur
Kaliumtris-(oxalato)-ferrat(III)	250 - 480	Bildung von Eisen (II)	Absorption des Fe(II)-1,10-Phenanthrolin-Komplexes bei 510 nm	[5,26,27, 28, 29]
Uranlyoxalat	210 - 435	Photoreduktion	Titration mit KMnO_4	[26,29]
Benzophenon-Benzhydrol	300 - 390	Pinakolbildung	Absorptionsdifferenzen	[29,30]
Stilben	254 - 366	Isomerisierung	Absorptionsdifferenzen , Gaschromatographie (GC)	[31]
2-Hexanon	313	Norrish Typ-II-Spaltung	Bestimmung des gebildeten Acetons mittels GC	[29]
Keton-Pentadien	313 und 366	Photosensibilisierte Isomerisierung	GC	[29]
Chinin	330	unbekannt	Absorption bei 400 nm	[32]
o-Cumarinsäure	254	E-Z-Isomerisierung	Absorption, Fluoreszenz bei 492 nm	[33]
Azoxybenzol	250 - 350	Umlagerung zu o-Hydroxyazobenzol	Absorption bei 458 nm	[34]
Azobenzol	230 - 480	E-Z-Isomerisierung	Absorption bei 358 nm	[35]
Phenylglyoxylsäure	254 - 405	Decarboxylierung	Absorption bei 360 - 390 nm, HPLC, Kernresonanzspektroskopie (NMR)	[36]

Fortsetzung von Tabelle 1

Aktinometer	Wellenlänge oder Spektral- bereich [nm]	Reaktion	Analytische Methode	Literatur
Aberchrome 540	310 - 375	Fulgid- Isomerisierung	Absorption bei 494 oder 343 nm	[37]
Chloressigsäure	254	Bildung von Cl^-	Potentiometrie, Polarographie,	[38]
3,4-Dimethoxy- nitrobenzol	308	Photohydrolyse	Absorptionsdifferenzen	[39]
Malachitgrün- leukocyanid	225 - 289	Photoionisierung	Absorption bei 620 nm	[40]
Iodid/ Bengalrosa	> 400	sensibilisierte Oxidation	Polarographie, Redoxtitration des Iodids	[41]
Kaliumdiamin- tetracyanochro- mat(III)	316 - 750	Ligandenaustausch	Absorption bei 450 nm, Absorption des Fe(III) thiocyanatkomplexes	[42]
Sauerstoff	130 - 190	Bildung von Ozon	Absorption des Iod/I^- Komplexes (aus Ozon und KI-Lösung) bei 353 nm	[43]
Meso-diphenyl- helianthren	436 - 545 475 - 610	Bildung des Endoperoxids	Absorption bei 405, 436, 546 oder 578 nm	[44]

Das gebräuchlichste Aktinometer ist das Tris(oxalato)-ferrat(III)-Aktinometer-(Ferrioxalat-Aktinometer). Es ist über einen weiten Spektralbereich empfindlich, weist eine hohe Quantenausbeute auf und beruht auf einer einfachen Konzentrationsmessung. Der Photolyt absorbiert stark, die Photolyseprodukte jedoch nur schwach. Bei Bestrahlung im Bereich von 250 bis 480 nm erfolgt die Redoxreaktion:



Die Berechnung der Strahlungsintensität I erfolgt nach:

$$I = \frac{n_{\text{Fe}^{2+}}}{\varphi \cdot T_{\text{hv}}}$$

Gleichung 10: I : Strahlungsintensität [$\text{Es} \cdot \text{s}^{-1}$]; $n_{\text{Fe}^{2+}}$: Stoffmenge Fe^{2+} [mol]; φ : Quantenausbeute; T_{hv} : Bestrahlungszeit [s].

Die Quantenausbeuten sind relativ unabhängig von Wellenlänge, Konzentration, Temperatur und Lichtintensität [29]. Die Werte sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2: Quantenausbeute und der Absorptionsgrad (in Prozent) des Ferrioxalat-Aktinometers bei verschiedenen Wellenlängen nach [5]

Wellenlänge [nm]	Konzentration an Tris(oxalato)ferrat(III) [mol/L]	Absorbiertes Licht in % des auffallenden Lichts bei einer Schichtdicke $d = 1.5$ cm	Quantenausbeute φ
480	0,15	57,8	0,94
436	0,15	99,7	1,01
366	0,15	100	1,21
334	0,006	100	1,23
313	0,006	100	1,24
302	0,006	100	1,24
254	0,006	100	1,25

2.2.4 Kinetik photochemischer Reaktionen

Die Messung des Umsatzes bei photochemischen Reaktionen kann durch Bestimmung der Ausgangsverbindung oder der entstandenen Photoprodukte erfolgen. Eingesetzt werden in der Regel HPLC, UV-Spektroskopie und Gaschromatographie (GC). Die UV-Spektroskopie ist sinnvoll, wenn die Reaktion am Chromophor oder Auxochrom stattfindet. Die Anwendung der GC ist aufgrund der oft nicht ausreichend flüchtigen bzw. nicht temperaturbeständigen Verbindungen limitiert [45].

Die Geschwindigkeit einer einfachen Photoreaktion ist (vgl. Gleichung 7, Kapitel 2.2.2.):

$$-\frac{dc_A}{dt} = \varphi_A \cdot I_a$$

Gleichung 11: I_a : absorbierte Quantenstromkonzentration [$\text{Es} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$], c_A : Konzentration [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$], t : Zeit [s]; φ_A : Quantenausbeute

Unter den Voraussetzungen, daß die Strahlung senkrecht auf eine planparallele Fläche fällt, die Intensität über die Eintrittsfläche gleich groß ist und die Strahlung monochromatisch ist, gilt das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz:

$$I_a = I_0(1 - e^{-\chi \cdot c_A \cdot d})$$

Gleichung 12: χ : natürlicher molarer Absorptionskoeffizient ($\chi = 2,3 \cdot \varepsilon$) [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$], ε : molarer Absorptionskoeffizient [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$], d : Schichtdicke [cm];

und damit resultiert aus Gleichung 11 und 12 nach [5]:

$$-\frac{dc_A}{dt} = \varphi_A \cdot I_0(1 - e^{-\chi \cdot c_A \cdot d}) = \varphi_A \cdot I_0(1 - 10^{-A_\lambda}) = \varphi_A \cdot I_0(1 - e^{-A'_\lambda})$$

Gleichung 13: A_λ : Absorption, $A'_\lambda = 2,3 \cdot A_\lambda$

Bei hohen Absorptionen wird 10^{-A_λ} gegen 1 vernachlässigbar, die Reaktion verläuft 0. Ordnung und es gilt [5]:

$$c_0 - c_A = \varphi_A \cdot I_0 \cdot t$$

Gleichung 14

Bei niedrigen Absorptionen und Entwicklung von Gleichung 13 als Reihe, kann für kleine Absorptionen nach dem linearen Glied abgebrochen werden [5]:

$$-\frac{dc_A}{dt} = \varphi_A \cdot I_0 \left(1 - 1 + \frac{A'_\lambda}{1!} - \frac{A'^2_\lambda}{2!} + \dots \right) \approx \varphi_A \cdot I_0 \cdot A'_\lambda = \varphi_A \cdot I_0 \cdot \chi \cdot c_A \cdot d = k \cdot c_A$$

Gleichung 15

Um den Fehler gering zu halten, sollte A'_λ klein sein. Die Reaktion verläuft 1. Ordnung und Integration führt zur Gleichung:

$$\ln \frac{c_0}{c_A} = \varphi_A \cdot I_0 \cdot \chi \cdot d \cdot t = k \cdot t$$

bzw.

$$\lg \frac{c_0}{c_A} = \varphi_A \cdot I_0 \cdot \varepsilon \cdot d \cdot t$$

Gleichung 16

Bei Gemischen kann die absorbierte Quantenstromkonzentration I_a^A der Verbindung A anhand des Verhältnisses der Absorption A_λ^A zur Gesamtabsorption A_λ berechnet werden [5].

$$I_a^A = \frac{A_\lambda^A}{A_\lambda} \cdot I_{a,ges} = \frac{A_\lambda^A}{A_\lambda} \cdot I_0 \cdot (1 - 10^{-A_\lambda})$$

Gleichung 17: I_a^A : absorbierte Quantenstromkonzentration der Verbindung A [$\text{Es} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$];
 A_λ^A : Absorption der Verbindung A; A_λ : Gesamtabsorption

2.3 UV-Filter

2.3.1 Methoden der photochemischen Stabilitätsuntersuchungen von UV-Filtern

Der Einsatz von Sonnenschutzmitteln ist von steigender Bedeutung, da Umweltfaktoren, wie die Abnahme der Ozonschicht, und auch das allgemeine Bewußtsein über die schädlichen Effekte von Sonnenlicht auf die menschliche Haut steigen. Grundsätzlich kann unterschieden werden zwischen physikalischen Lichtschutzsubstanzen, deren Wirkprinzip auf der Reflexion von Strahlung beruht, und chemischen Lichtschutzsubstanzen, die Strahlung absorbieren und als UV-Filter bezeichnet werden. Letztere können weiterhin, basierend auf dem Typ der Strahlung gegen den sie schützen, in UV-A- und UV-B-Filter eingeteilt werden [46]. UV-A ist der langwellige UV-Bereich von 320 - 400 nm, Strahlung der Wellenlänge von 280 - 320 nm wird als UV-B bezeichnet, während kurzwelligere UV-Strahlung (< 280 nm) als UV-C bezeichnet wird. UV-Filter im Sinne der Kosmetikverordnung sind Stoffe und Zubereitungen, die kosmetischen Mitteln zu dem Zweck hinzugefügt werden, Ultraviolett-Strahlen zu filtern, um die Haut oder auch kosmetische Erzeugnisse vor schädlichen Einwirkungen dieser Strahlen zu schützen.

Die photochemische Stabilität von UV-Filtern ist sowohl hinsichtlich der Bildung von photochemischen Abbauprodukten mit eventuell unerwünschten Wirkungen als auch in Hinblick auf Wirksamkeitsverluste von Bedeutung. Untersuchungen zur photochemischen Stabilität sind bisher aber kein Kriterium für die Zulassung durch die EU-Kommission. Die Richtlinien des Scientific Committee for Cosmétiqueology (SCC) der EU für die Zulassung der UV-Filter [47] beziehen sich lediglich auf Untersuchungen zur Phototoxizität und Photosensibilisierung.

Die ICH (International Conference on Harmonisation) [48] empfiehlt in ihren Richtlinien Photostabilitätsuntersuchungen generell als Bestandteil des normalen Stresstests. In den entsprechenden Richtlinien wird zwischen beschleunigten und bestätigenden Tests unterschieden, wobei neben Xenon-Lampen auch Niederdruckstrahler für den UV- und vis-Bereich empfohlen werden.

Nur für einen Teil der UV-Filter sind photochemische Stabilitätsuntersuchungen dokumentiert worden, und es ist erstaunlich wie wenig Information in der Literatur bezüglich der Photochemie dieser Verbindungen vorhanden ist [49]. Dennoch wird der Charakterisierung möglicher photochemischer Abbauprozesse zunehmende Aufmerksamkeit

entgegengebracht, wobei die Untersuchungen unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt wurden. Zum einen wird die allgemeine Photochemie der UV-Filter isoliert betrachtet, zum anderen erfolgt eine Simulation der natürlichen Umgebung unter Anpassung an verschiedene Parameter.

Nach Bestrahlung der *Lösungen der reinen UV-Filter* konnten sowohl Änderungen im UV-Spektrum [50] erkannt werden als auch der Abbau der Ausgangsverbindung bzw. die Bildung von Photoprodukten mittels HPLC [51,52,53], Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) [52] oder Kernresonanzspektroskopie (NMR) [54] verfolgt werden. Zwischenprodukte konnten mittels Blitzlichtphotolyse [55,56] oder ESR [57] näher charakterisiert werden.

Zubereitungen der UV-Filter wurden auf Uhrgläsern [58], Quarzplatten [59], Polymethylmethacrylat-Platten [60], Stratum corneum [61] oder isolierter menschlicher Epidermis [62], bestrahlt, wobei anschließend die Bestimmung der totalen Transmission [60-62] bzw. die Änderungen im Absorptionsspektrum [58,59] oder HPLC-Untersuchungen [60] erfolgten.

Eine detailliertere Betrachtung der Photostabilität bzw. der Photochemie der verwendeten UV-Filter wird in den folgenden Kapiteln durchgeführt.

2.3.2 Zur Photochemie der untersuchten UV-Filter

Strukturelle Ähnlichkeiten der Substanzen sind die Ursache für die gemeinsame Fähigkeit, im Grundzustand Strahlung im UV-Bereich zu absorbieren und in einen angeregten Zustand überzugehen. Es handelt sich um substituierte aromatische Verbindungen, wobei als Grundkörper u.a. 4-Aminobenzoessäure (*p*-Aminobenzoessäure, PABA), Salicylsäure, Zimtsäure und Benzophenon dienen.

2.3.2.1 4-Aminobenzoessäure und 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester

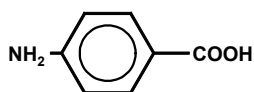


Abbildung 6: 4-Aminobenzoessäure - Formel

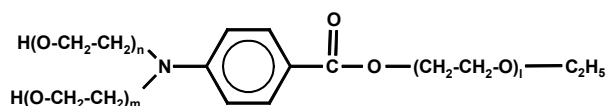


Abbildung 7: 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester - Formel

Die photochemische Reaktivität der 4-Aminobenzoessäure (PABA) ist schon lange bekannt [63]. Hodges *et al.* zeigten, daß PABA als Sensibilisator agiert und zum Absterben von *Escherichia coli* Zellen nach Exposition mit UV-Strahlung von 313 nm führt [64]. Weiterhin bewirkt UV-Strahlung eine Veränderung des Absorptionsspektrums der PABA [50]. Die Fähigkeit dieser Verbindung als Photosensibilisator die Dimerisierung von Thymin zu induzieren und Thyminaddukte zu bilden, ist gut dokumentiert [65-68]. Die Reaktion mit DNA-Basen wird dabei für eine mögliche UV-induzierte Mutagenität verantwortlich gemacht [69]. Weitere Untersuchungen zur Photochemie der PABA konzentrierten sich hauptsächlich auf die Aufklärung stabiler Photoprodukte in wäßriger Lösung, wobei keine Übereinstimmung über die Art der Photoprodukte besteht. Die Bildung von *E*- und *Z*-4,4'-Azobenzoldicarbonsäure wurde von Gasparro beschrieben [70]. Darin wurde ihm von Shaw *et al.* [53] widersprochen, die andere Photoprodukte gefunden haben. In deoxygenierter Lösung zwischen pH 7,5 und 11 identifizierten sie 4-(4'-Aminophenyl)aminobenzoessäure und 4-(2'-Amino-5'-carboxyphenyl)aminobenzoessäure als Photoprodukte. In sauerstoffbegaster Lösung hingegen fanden sie 4-Amino-3-hydroxybenzoessäure, 4-Aminophenol und 4-(4'-Aminophenyl)aminobenzoessäure. Langford *et al.* [71] konnten mittels HPLC bis zu neun verschiedene Photoprodukte detektieren, wobei die Bildung von 4,4'-Azobenzoldicarbonsäure und 4,4'-Hydrazobenzoldicarbonsäure bestätigt wurde. Es sind Beweise geliefert worden, daß einige reaktive Zwischenstufen während der Photolyse in wäßrigen PABA-Lösungen gebildet werden. Mittels ESR-Untersuchungen wurden $\cdot\text{H}$ -Radikale, $\cdot\text{OH}$ -Radikale, sowie $\cdot\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$ -Radikale nachgewiesen [57].

2.3.2.2 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon und 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure

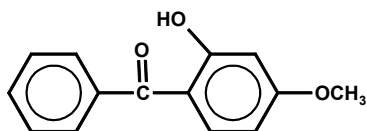


Abbildung 8: 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon (Oxybenzonum) - Formel

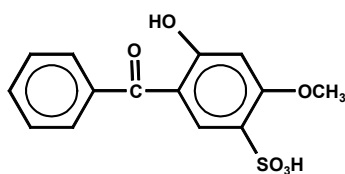


Abbildung 9: 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure (Sulisobenzonum) - Formel

Die Bewertung der Photostabilität von Oxybenzonum und Sulisobenzonum ist in der Literatur widersprüchlich. Bisherige Untersuchungen lieferten zunächst keine Hinweise auf Photoprodukte, die nach Bestrahlung mittels HPLC oder GC erfassbar sind [72]. Die Stabilität der spektralen Eigenschaften (spektrale Stabilität) wurde im allgemeinen als exzellent [73] bezeichnet, da sich die Absorptionseigenschaften nach Bestrahlung nicht veränderten [73,74]. Die Benzophenone gelten als photostabil, da sie im angeregten Zustand einem schnellen Wasserstoff-Transfer unterliegen können (ausgehend von der phenolischen OH-Gruppe zum Carbonyl-Sauerstoff). Die Rückreaktion ist exotherm, wobei die produzierte Wärme von Matrixbestandteilen aufgenommen werden kann [75].

Demgegenüber wurden von Marti-Mestres *et al.* [58] Veränderungen im UV-Spektrum nach Bestrahlung von Zubereitungen von Oxybenzon und Sulisobenzon festgestellt. Zu berücksichtigen war der Einfluß des Lösungsmittels, da Veränderungen der Absorptionseigenschaften in Abhängigkeit von Matrixbestandteilen auftraten [58]. Als möglicher Mechanismus wurde die Homolyse der Aryl-Carbonyl-Bindung aufgeführt [75]. Schallreuter *et al.* postulierten aus Untersuchungen mittels Fourier-Transform-Raman Spektroskopie die photochemische Oxidation zu einem reaktiven Oxybenzonsemichinon. [76]. Dieser These widersprachen Hintze *et al.* [77], die aus Ergebnissen mittels Raman-Spektroskopie keine Hinweise auf photochemische Instabilität erhielten.

2.3.2.3 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester

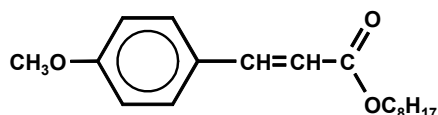


Abbildung 10: 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester - Formel

4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester wird oft als photochemisch instabiler UV-Filter bezeichnet [60], da die Absorption am Absorptionsmaximum nach Bestrahlung rasch abnimmt [58,74,73,78].

Als α,β -ungesättigte Carbonylverbindung ist 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester zur photochemischen *E-Z*-Isomerisierung befähigt. Diese Reaktionen von Doppelbindungen sind bisher detailliert untersucht worden [79] und stellen für zahlreiche UV-Filter den grundlegenden Desaktivierungsprozeß dar.

Molière *et al* [78] postulierten eine einfache *E-Z*-Isomerisierung ohne die Bildung weiterer Photoprodukte, wobei im einfachsten Fall ein photostationärer Gleichgewichtszustand erreicht ist, wenn

$$\Phi_{E \rightarrow Z} \cdot \varepsilon_E \cdot (1 - x_e) = \Phi_{Z \rightarrow E} \cdot \varepsilon_Z \cdot x_e$$

Gleichung 18: $\Phi_{E \rightarrow Z}$ und $\Phi_{Z \rightarrow E}$: Isomerisierungsquantenausbeuten; ε_E und ε_Z : Absorptionskoeffizienten des *E* und *Z* Isomers [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$]; x_e : molarer Anteil des *E*-Isomers im photostationären Gleichgewichtszustand

Jedes Isomer kann nach Absorption von Strahlung in die andere Form übergehen, was zu einer Mischung von Isomeren führt. Die UV-Absorption von *cis*-Olefinen ist häufig hypsochrom verschoben und intensitätsschwächer im Vergleich zu *trans*-Olefinen [80]. Allgemein bekannt ist die photochemisch induzierte Dimerisierung der gewöhnlichen Zimtsäure zu Truxillsäure (2,4-Diphenyl-cyclobutan-1,3-dicarbonsäure) und Truxinsäure (3,4-Diphenyl-cyclobutan-1,2-dicarbonsäure) [81]. Die entsprechenden Photodimere und Folgeprodukte des 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylesters sind ebenfalls in der Literatur beschrieben [82,83]. Weiterhin stellten Morrison *et. al.* die photochemisch induzierte Bindung von *p*-Methoxyzimtsäure an DNA fest und erklärten sich dies durch die Bildung von Cyclobutanaddukten.

2.3.2.4 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester)

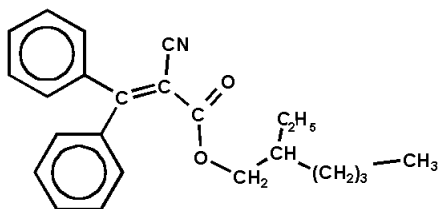


Abbildung 11: 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester)(Octocrilen) - Formel

2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester) stellt ebenfalls eine α,β -ungesättigte Carbonylverbindung dar, wobei aber aufgrund der beiden Phenylsubstituenten keine *E-Z*-Isomere existieren.

Es wird eine ausgezeichnete Photostabilität proklamiert [85], obwohl bisher sind kaum Untersuchungen bezüglich der Photochemie dieser Verbindung durchgeführt wurden. Eine photochemische Degradation des UV-Filters ist lediglich in Polymerfilmen beobachtet worden [75]. Photoprodukte konnten aber bisher nicht identifiziert werden.

2.3.2.5 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on

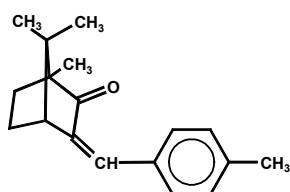


Abbildung 12: 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on - Formel

Benzyldencampherderivate sind ebenfalls α,β ungesättigte Carbonylverbindungen und damit zur photochemischen *E-Z*-Isomerisierung befähigt [86].

Während der Bestrahlung von 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on ist auch hier ein photochemischer Gleichgewichtszustand schnell erreicht, praktisch agiert eine Mischung der *E*- und *Z*-Form als UV-Filter [87]. Die Isomerisierung ist überlagert von einer photochemischen Degradation, erkennbar an der Abnahme der Absorption nach Bestrahlung [59,87], wobei die Photoprodukte bisher noch nicht identifiziert worden sind [88].

2.3.2.6 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion

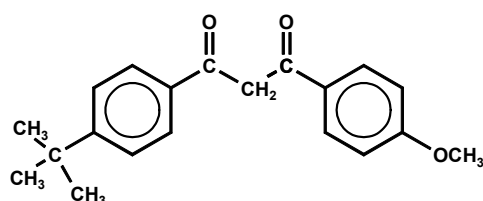


Abbildung 13: 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion - Formel

1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion zeigt als 1,3-Dicarbonylverbindung Keto-Enol-Tautomerie [89]. Damit liegt in der Enol-Form auch hier eine α,β ungesättigte Carbonylverbindung vor. Die Lage des Keto-Enol-Gleichgewichtes hängt vom Lösungsmittel, der Temperatur und der Konzentration ab [81]. Sowohl in polaren als

auch in apolaren Lösungsmitteln dominiert die Enolform, wobei der Enolgehalt in apolaren Lösungsmitteln aufgrund der Stabilisierung durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung höher ist [56]. Die Enolformen zeigen gewöhnlich starke Absorptionsbanden im UV-Bereich, hervorgerufen durch π - π^* -Übergänge im chelatierten quasi-aromatischen π -Elektronen-System. In Lösung wurde die Existenz von drei tautomeren Formen (zwei cis-Enole, ein β -Diketon) bestätigt [90].

Bei Bestrahlung von verdünnten Lösungen in Acetonitril erfolgt Konversion der Enolform ($\lambda_{\max} \cong 350$ nm) zur Ketoform ($\lambda_{\max} \cong 260$ nm) [55,90]. Dieser als Photoketonisation bezeichnete Prozeß erfolgt über Zwischenstufen, vermutlich über das *E*-Isomer oder Rotamer der Enol-Form [55,91].

In apolaren Lösungsmitteln ist 1-(4-*tert*-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion photochemisch instabiler als in polaren, wobei zahlreiche Photoprodukte (*p*-Methoxybenzoesäure, *p*-*t*-Butylbenzoesäure, *t*-Butylbenzol u.a.) identifiziert werden konnten [52,72].

2.3.2.7 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure

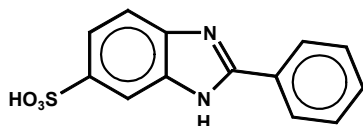


Abbildung 14: 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure - Formel

2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure gilt als stabiler UV-Filter. Bisher sind weder Veränderungen im Absorptionsvermögen [73,74,92] noch Photoprodukte identifiziert worden.

2.3.2.8 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat

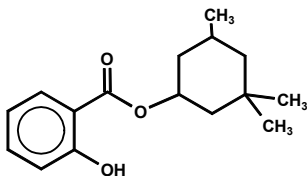


Abbildung 15: 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat (Homosalatum) - Formel

Homosalatum gilt ebenfalls als stabiler UV-Filter, auch bezüglich dieser Substanz sind bisher weder Veränderungen im Absorptionsvermögen [73] noch Photoprodukte identifiziert worden.

3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1 Konstruktion eines neuen Durchfluß-Photoreaktors

3.1.1 Allgemeiner Aufbau

Um variable Untersuchungen zur Photostabilität im Durchfluß durchführen zu können, wurde ein Durchfluß-Photoreaktor konstruiert. Der Reaktor ist sowohl für den Einsatz vor der Trennsäule als auch nach der Trennsäule geeignet und in jedem HPLC-Labor mit geringstem finanziellen Aufwand herstellbar.

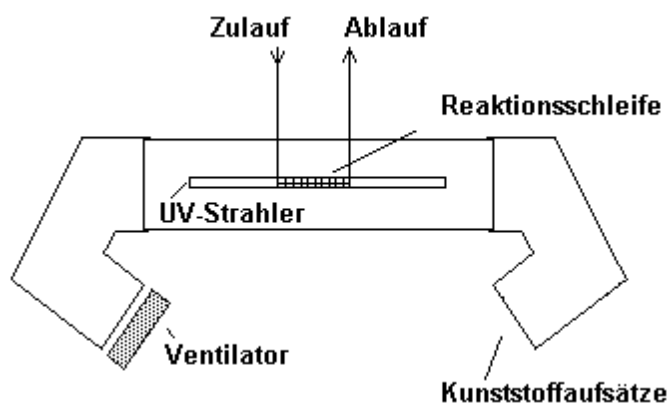


Abbildung 16: Schematische Darstellung des konstruierten photochemischen Reaktors bei Einsatz von Hg-Niederdruckstrahlern

Die Niederdruckstrahler wurden in einer Aluminiumröhre positioniert, um UV-Strahlung nach außen abzuschirmen und gleichzeitig die Strahlungsintensität im Inneren der Röhre durch Reflexion zu erhöhen. An den Enden der Röhre befanden sich Kunststoffaufsätze. Die gewinkelte Anordnung der Aufsätze ermöglichte ein Durchströmen des Luftstromes, wobei der Schutz vor UV-Strahlung aber weiterhin gegeben war. Die Einstrahlungsspektren wurden durch den alternativen Einsatz von drei Hg-Niederdruckstrahlern mit Emissionsbereichen im UV-C, UV-B und UV-A und einem Hg-Hochdruckstrahler variiert. Die UV-C-Strahler emittieren nahezu monochromatisch bei 254 nm, während UV-B und UV-A-Strahler ein breiteres Spektrum emittieren (Abbildung 17):

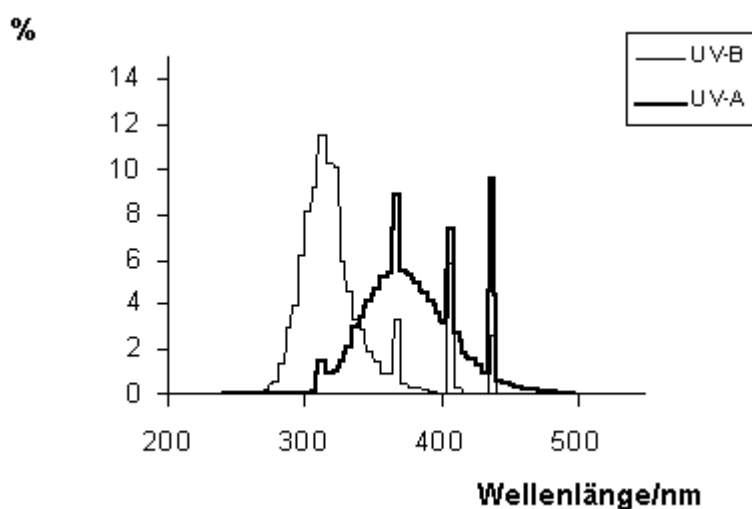


Abbildung 17: Prozentuale Spektralflußverteilung der UV-A- und UV-B-Strahler nach Herstellerangaben

Entscheidend für die Bestrahlung vor der Trennsäule war die Verwendung hochdruckstabiler Reaktionsschleifen. Es konnten sowohl die auf dem Markt befindlichen hochdruckstabilen Kapillaren¹ der Firma ICT verwendet werden als auch selbst gefertigte Reaktionsschleifen aus ETFE (Ethyltrifluorethylen, Tefzel). ETFE erwies sich als ausreichend UV-durchlässig (siehe folgende Untersuchungen) und ist nach Herstellerangaben hochdruckstabil bis 260 bar.

Weiterhin wurden PTFE und Quarz als Materialien eingesetzt. Die Fertigung der Kapillarschleifen erfolgte bei PTFE und ETFE durch Häkeln mit einer einfachen Häkelnadel oder durch Wickelung über ein selbst gefertigtes Trägersystem.

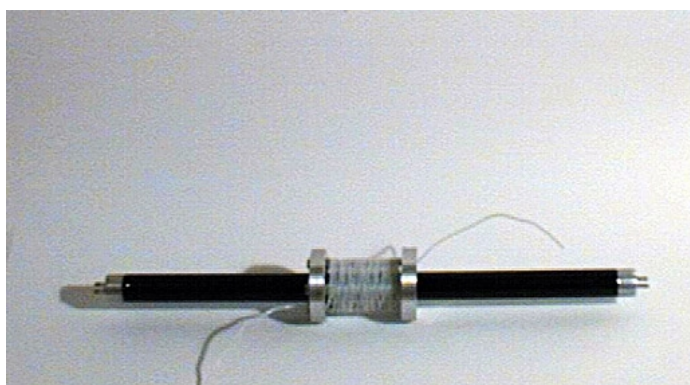


Abbildung 18: UV-A-Strahler (Philipps) mit Reaktionskapillare (Länge $l = 5$ m, Innendurchmesser $ID = 0,254$ mm), gewickelt um ein konstruiertes Trägersystem

¹ Informationen bezüglich des verwendeten Materials sind derzeit vom Hersteller (Firma ICT) nicht erhältlich.

Die Quarzkapillaren wurden aus für die Gaschromatographie üblichen, aber unbelegten Kapillaren hergestellt. Die Entfernung der äußeren Polyimidschicht war auf einfache Weise durch thermische Behandlung möglich. Die Sprödigkeit des Materials machte eine Wicklung unmöglich, so daß diese nur längs neben dem verwendeten Strahler als kurze Reaktionskapillaren eingesetzt werden konnten. Die PTFE- und ETFE-Kapillaren wurden aus Schläuchen mit verschiedenen Längen ($l = 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5$ und 15 m) und Innendurchmessern ($ID = 0,254; 0,3$ mm)² hergestellt. Für die Hg-Niederdruckstrahler wurden röhrenförmige Schleifen mit einem Gesamtdurchmesser von $1,8 \pm 0,5$ cm gehäkelt, so daß die Schleifen direkt über die entsprechenden Lampen gezogen werden konnten. Der Einsatz des Hg-Hochdruckstrahlers bedingte einen grundsätzlich anderen Aufbau, da der Kontakt von Reaktionskapillare und Strahlungsquelle aufgrund der nötigen Wasserkühlung nicht möglich war. Reaktionskapillaren mit einem Gesamtdurchmesser von 5 cm konnten aber über den Kühlmantel gezogen werden.

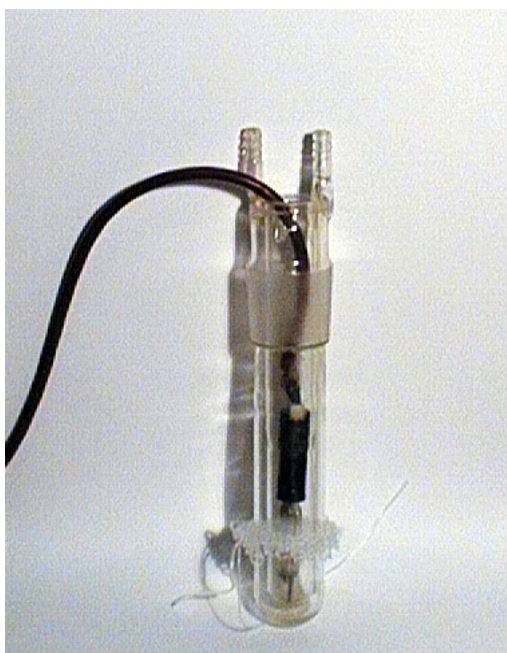


Abbildung 19: Hg-Hochdruck-Strahler (Philipps) mit Reaktionskapillare (Länge $l = 3,0$ m, Innendurchmesser $ID = 0,254$ mm)

Mittels eines Thermofühlers wurde die Temperatur an den Oberflächen der Lampen kontrolliert. Die drei Niederdruckstrahler zeichneten sich durch geringe Erwärmung aus (UV-C-Strahler: 43 °C, UV-B-Strahler: 45 °C, UV-A-Strahler: 43 °C; Schwankungen ± 2 °C). Durch den Einsatz eines Ventilators konnte die Oberflächentemperatur der Strahler

² Die Innendurchmesser entsprechen Herstellerangaben, die Längen der Schläuche wurden selbst festgesetzt.

weiter herabgesetzt werden (UV-C-Strahler: 22 °C, UV-B-Strahler: 23 °C, UV-A-Strahler: 22 °C; Schwankungen ± 2 °C). Die Oberflächentemperatur des Kühlmantels des Hg-Hochdruckstrahlers war abhängig von der Effektivität der Wasserkühlung und konnte bis auf 25 °C gesenkt werden.

3.1.2 Vergleich mit handelsüblichen Reaktoren

Da handelsübliche Reaktoren in der Regel für analytische Zwecke genutzt werden, steht die schnelle photochemische Umsetzung des Analyten im Vordergrund. Aufgrund des meist aromatischen Charakters der zu untersuchenden Verbindungen ist der Einsatz von Niederdruck UV-C-Lampen mit einer Hauptemission von 253,7 nm in vielen Fällen effektiv. Käuflich zu erwerben sind Photoreaktoren mit Hg-Niederdruckstrahlern, die einen Emissionsbereich im UV-C und UV-A besitzen. Zur Verfügung stand das Gerät "Beam Boost" der Firma ICT. Die UV-A-Strahler waren sowohl im industriell gefertigten Gerät als auch extern im konstruierten Reaktor einsetzbar. Ein Betrieb des handelsüblichen UV-C-Strahlers war jedoch nur in geschlossenen Systemen möglich, im konstruierten Reaktor war er aufgrund von zu starker Ozonproduktion ausgeschlossen.

Daher wurde ein UV-C-Strahler mit Spezialgläsern (Philips TUV 8W, G8 T 5) verwendet, der laut Hersteller keine ozonerzeugende Strahlung produziert. Dieser war auch im "Beam Boost" einsetzbar. UV-B-Strahler sind bisher nicht handelsüblich, für Stabilitätsuntersuchungen im UV-Bereich aber zweckmäßig, um auch diesen Wellenlängenbereich zu erfassen. Quecksilber-Hochdruckstrahler sind bereits für die photochemische Nachsäulenderivatisierung genutzt worden [12], aber für käufliche Photoreaktoren nicht erhältlich.

Die industriell gefertigten Geräte werden ohne Kühlung betrieben. Um Temperatureinflüsse auszuschließen, war für Stabilitätsuntersuchungen eine Kühlung erforderlich. Mit dem konstruierten Reaktor waren vergleichende Untersuchungen bei verschiedenen Temperaturen unter Kontrolle durch einen Thermofühler möglich.

3.1.3 Integration des Photoreaktors in ein Meßsystem

Der Photoreaktor konnte in einen einfachen FIA-Meßplatz, bestehend aus Pumpe, Injektionsventil, Detektoren, Schreiber und evtl. Rechner, mittels Kupplungsstücken integriert werden. Nach Injektion der zu untersuchenden Lösung wurden die Substanzen im Durchfluß bestrahlt und anschließend direkt detektiert.

Weiterhin erfolgte die Schaltung des photochemischen Reaktors on-line in ein HPLC-System. Der Einsatz war sowohl vor als auch nach der Trennsäule möglich. Im Rahmen

dieser Arbeit wurden ein UV-Detektor, ein elektrochemischer Detektor und ein fluorimetrischer Detektor eingesetzt. Die Bestrahlungszeiten konnten durch Veränderung des Kapillarovolumens oder der Fließgeschwindigkeit sowie durch das Abstellen der Pumpe zum Zeitpunkt des Aufenthalts der Substanzen in der Kapillare variiert werden. Für die amperometrische Detektion (Arbeitselektrode: Glassy Carbon, Referenzelektrode: $\text{Ag/AgCl}/c(\text{KCl}) = 3 \text{ mol/L}$) war das Abstellen der Pumpe und die damit verbundene Unterbrechung des Durchfluß nicht optimal. Der Grundstrom fiel nach dem Abstellen zunächst ab und stabilisierte sich nach erneutem Anstellen erst nach einer bestimmten Zeit. Einer Verlängerung der Bestrahlungszeiten waren damit Grenzen gesetzt (maximale Bestrahlungszeit: 5 min). Die Meßergebnisse der ECD hängen von der Fließgeschwindigkeit ab [93]. Die Flußrate beeinflusst auch die Höhe des Grundstroms, der vor allem durch Oxidations- bzw. Reduktionsvorgänge an der Elektrodenoberfläche, durch Aufladen der elektrischen Doppelschicht und durch elektrochemische Verunreinigungen erklärt wird [94]. Durch den Einsatz eines weiteren Injektionsventils wurde ein zweiter Schaltkreis geschaffen. In der Stellung "Inject" des Reodynes wurde der Photoreaktor durchflossen und in der Stellung "Load" der Fluß an der Kapillare vorbei geleitet. Ein permanentes Durchströmen des ECD wurde damit gewährleistet und ein Absinken des Grundstromes verhindert.

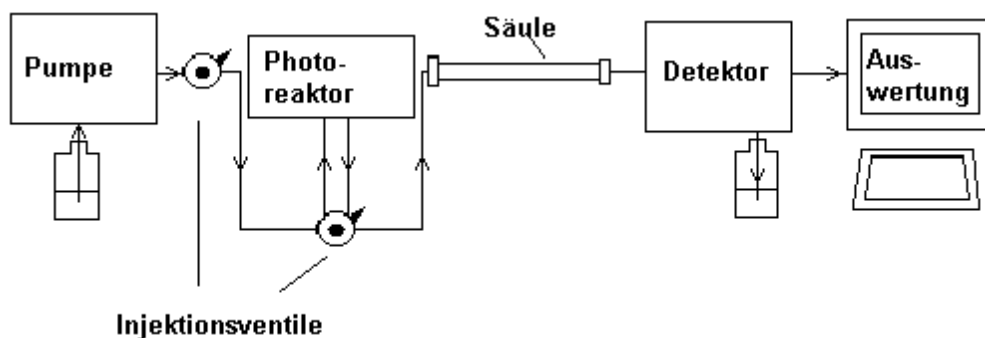


Abbildung 20: Schematische Darstellung des HPLC-Systems mit integrierten Photoreaktor für die Bestrahlung vor der Trennsäule unter Gewährleistung des permanenten Durchflusses durch die amperometrische Detektorzelle

3.2 Vergleich von Strahlungsintensitäten im Durchfluß

3.2.1 Methode und Auswahlkriterien der aktinometrischen Messungen

Um vergleichende Untersuchungen der absorbierten Strahlungsintensitäten durchzuführen, wurde die bewährte Ferrioxalat-Aktinometrie angewandt. Ziel war es den Einfluß relevanter Parameter auf die Strahlungsintensitäten zu bewerten. Entsprechend der anschließend zu untersuchenden Proben wurde zur Standardisierung zunächst eine Aktinometer-Lösung in das Durchfluß-System injiziert und bestrahlt. Nach dem Auffangen der Lösung in einem Maßkolben erfolgte die Reagenzienzugabe und die photometrische Bestimmung des gebildeten Eisen (II). Der Absorptionskoeffizient des o-Phenanthrolin-komplexes wurde mit $1,12 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ spektralphotometrisch ermittelt (Wert von Hatchard und Parker $1,11 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [26]).

Eine direkte Bestimmung der Absorption im Durchfluß mit UV-Detektion wäre prinzipiell denkbar, wobei die Reagenzienzugabe aufgrund der Eigenabsorption und der photochemischen Instabilität [27] des o-Phenanthrolins erst nach der Bestrahlung erfolgen sollte. Somit müßten zusätzliche Pumpen und Mischkammern eingesetzt werden. Da die Absorptionsmessung nach 30 min empfohlen wird [27], beinhaltet die Durchfluß-Methode keine echten Vorteile, so daß die nach der on-line Bestrahlung durchgeführte relativ aufwendige stationäre Extinktionsmessung vorgezogen wurde.

Folgende Auswahlkriterien für die Aktinometer wurden berücksichtigt:

- Aggregatzustand der Aktinometer-Lösung: Da die Grundlage der photochemischen Umsetzungen ein Durchfluß-System darstellte, wurde die Auswahl auf flüssige Aktinometer beschränkt.
- Wellenlängenbereich: Der Absorptionsbereich der Aktinometerlösung sollte zwischen 250 - 500 nm liegen, damit der Emissionsbereich aller eingesetzten UV-Strahler erfaßt werden konnte. Die Absorption im vis-Bereich erforderte allerdings das Arbeiten unter Rotlicht. Die Messungen sind daher relativ aufwendig und zeitraubend [95].

- Kenntnis der Quantenausbeuten im relevanten Wellenlängenbereich: Für die Ferrioxalat-Aktinometrie sind die Quantenausbeuten im relevanten Wellenlängenbereich bekannt (siehe Tabelle 2, Kapitel 2.2.3.). Aufgrund der polychromatischen Lichtemission der UV-A- und UV-B-Strahler sollte die Wellenlängenabhängigkeit der Quantenausbeute berücksichtigt werden, wobei diese bei der Ferrioxalat-Aktinometrie gering ist [26]. Nach Moore D.E. kann im Wellenlängenbereich bis 400 nm auch der Wert 1,2 genutzt werden [96].
- Einfachheit der analytischen Methode: Um den experimentellen und zeitlichen Aufwand zu reduzieren, wurde die UV-Spektroskopie den Methoden der GC, NMR und Maßanalyse vorgezogen.
- Genauigkeit: Die Genauigkeit der Methoden basiert in der Regel auf der Genauigkeit der Bestimmungsmethode und der Vergleichsmethode mit der die entsprechenden Quantenausbeuten berechnet werden. Es werden Photodioden [44], Thermosäulen (in Serie geschaltete Thermoelemente) oder andere chemische Aktinometer eingesetzt. Hatchard und Parker [26] geben die Präzision der ermittelten Quantenausbeuten der Ferrioxalat-Aktinometrie mit wenigen Prozent an.
- Empfindlichkeit: Aufgrund der hohen Empfindlichkeit [26] konnten die Bestrahlungszeiten kurz und damit der zeitliche Aufwand gering gehalten werden. Die Änderung der Absorption bei der Meßwellenlänge von 510 nm sollte im Bereich von 0,4 bis 1,0 liegen.
- Robustheit: Entscheidend war vor allem der Einfluß der Temperatur, da vergleichende Untersuchungen ohne und mit Einsatz der Kühlung durchgeführt wurden. Die Quantenausbeute der Ferrioxalat-Aktinometrie ist im Temperaturbereich von 5 - 80 °C konstant. [28]. Dies ist eine Voraussetzung, die wenige Aktinometer-Lösungen erfüllen. Weiterhin ist die Quantenausbeute unabhängig vom Sauerstoffgehalt [26] und nur geringfügig abhängig von der Wellenlänge (siehe oben), der Konzentration [29], der Strahlungsintensität [29] und der Zusammensetzung der Lösung [26].

Die ICH empfiehlt die Chinin-Aktinometrie für die Standardisierung von UV-Lampen, die für photochemische Stabilitätsuntersuchungen eingesetzt werden. Aufgrund der nicht exakten Kenntnis des Ablaufs der photochemischen Reaktion [97], der nicht bekannten Quantenausbeuten [32] und vor allem aufgrund des begrenzten Spektralbereiches bis 335 nm [96] wurde die Chinin-Aktinometrie jedoch nicht eingesetzt.

3.2.2 Bestimmung der Bestrahlungszeiten

3.2.2.1 Methode

Um die Strahlungsintensitäten pro Zeiteinheit angeben zu können, war es zunächst erforderlich, die entsprechenden Bestrahlungszeiten T_{hv} unter Variation der relevanten Parameter zu ermitteln. Die durchschnittlichen Bestrahlungszeiten wurden sowohl theoretisch berechnet als auch praktisch bestimmt.

Die *theoretische Berechnung* erfolgte nach Gleichung 2 (siehe Kapitel 2.1.2.2.), wobei das Volumen der Kapillare nach Herstellerangaben (Länge l und Innendurchmesser ID) berechnet werden konnte. Die Bestrahlungszeiten in Durchfluß-Systemen sind abhängig von der Flußrate und dem Volumen der Kapillaren. Da bei den verwendeten Reaktionskapillaren ($ID = 0,1' = 0,254 \text{ mm}$) der Innendurchmesser vom Hersteller mit einem Fehler von $\pm 0,01'$ festgelegt ist und der Radius im Quadrat in die Berechnung eingeht, konnte der allein daraus resultierende Fehler der Bestrahlungszeiten T_{theo} entsprechend hoch sein.

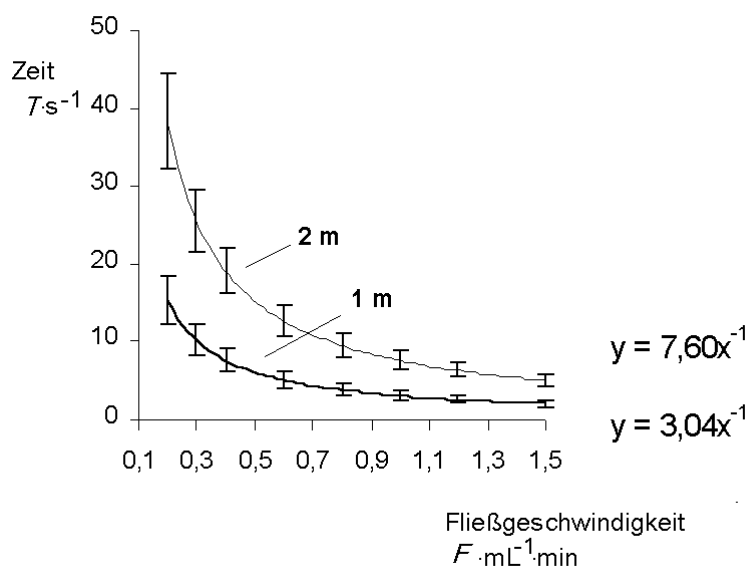


Abbildung 21: Berechnung der theoretischen Bestrahlungszeiten T_{theo} in den Reaktionsschleifen mit 1,0 m und 2,0 m Länge bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten. Die eingefügten Fehlerindikatoren basieren auf der nur mit 0,01' Genauigkeit festgelegten Innendurchmesser ($ID = 0,1' = 0,254 \text{ mm}$).

Der Fehler durch die Flußrate F wurde dabei der Einfachheit halber vernachlässigt, da an eine HPLC-Pumpe im analytischen Bereich eine Anforderung an die Flußkonstanz von $\pm 2\%$ und besser gestellt wird [98] und eine volumetrische Überprüfung keine Hinweise auf Abweichungen ergab.

Die Länge l der eingesetzten Kapillaren werden vom Hersteller mit einem Fehler von ± 10 cm angegeben. Bei selbst hergestellten Kapillaren wurde der Fehler durch verschiedene Längen hingegen vernachlässigt.

Die *praktische Bestimmung* der Bestrahlungszeiten basierte auf der Auswertung der erhaltenen Signale des UV-Detektors, ohne und mit Integration der Kapillaren in das Fließinjektionssystem. Zu diesem Zweck wurde die Aktinometer-Lösung eingesetzt, da mit dieser auch die entsprechenden Umsetzungen nach Bestrahlung verfolgt wurden. Eine $4 \cdot 10^{-3}$ molare „Ferrioxalat“-Aktinometerlösung wurde in das FIA-System injiziert und anschließend photometrisch bei 300 nm detektiert. Die Bestrahlungszeiten T_{hv} wurden aus den Differenzen von $T_{\text{Ges}} - T_0$ berechnet, wobei T_0 die Verweilzeit ohne Integration der Kapillare und T_{Ges} die Verweilzeit mit Reaktionskapillare bezeichnet.

$$T_{\text{hv}} = T_{\text{Ges}} - T_0$$

Gleichung 19: T_{Ges} : mittlere Verweilzeit im Gesamtsystem (mit Reaktionskapillare) [s]; T_0 : Verweilzeit ohne Integration der Kapillare [s]; T_{hv} : Bestrahlungszeit [s]

Da bei der Integration der Reaktionskapillare ein zweites Kupplungsstück mit in das System geschaltet werden mußte, erfolgte die Bestimmung von T_0 durch den Einsatz eines 4 cm langen Stücks Kapillare. Damit waren beide notwendigen Kupplungsstücke integriert. Die eingesetzten Reaktionskapillaren wurden dementsprechend jeweils um 4 cm der angegebenen Länge verlängert.

Die Bestimmung der Verweilzeiten basierte auf der Auswertung der Zeit, die dem Peakmaximum entspricht (Methode 1) oder auf der Berechnung der Summenhäufigkeit der Verweilzeiten (Methode 2). Beruhend auf der Gleichung von Ruzicka *et al.* (Gleichung 20) zur Berechnung der mittleren Verweilzeiten, erfolgte die Berechnung der mittleren Bestrahlungszeiten nach Gleichung 21.

$$T = \frac{\int_0^{\infty} t c \cdot dt}{\int_0^{\infty} c \cdot dt}$$

Gleichung 20: Berechnung der mittleren Verweilzeiten T nach [20]

$$T = \frac{\sum_{t=0}^n t A_t}{\sum_{t=0}^n A_t}$$

Gleichung 21: Gleichung zur Berechnung der mittleren Verweilzeiten T ; A_t : Absorption (Signal des UV-Detektors) zur Zeit t ; T : mittlere Verweilzeit/s; n : Anzahl der Meßpunkte ($n = 900$)

Da die Peakformen, vor allem bei kurzen Verweilstrecken und hohen Fließgeschwindigkeiten nicht gaussförmig waren (Abbildung 22), ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Auswertemethoden (siehe folgende Kapitel).

3.2.2.2 Bestimmung der Verweilzeiten ohne Integration der Reaktionsschleifen

Die Diskrepanz zwischen den Auswertemethoden wurde vor allem bei der Bestimmung der Verweilzeiten T_0 ohne Integration der Kapillare deutlich, da bei kurzer Aufenthaltszeit im Durchfluß-System die Peaks das stärkere Tailing besaßen (vgl. Kapitel 2.1.2.2.).

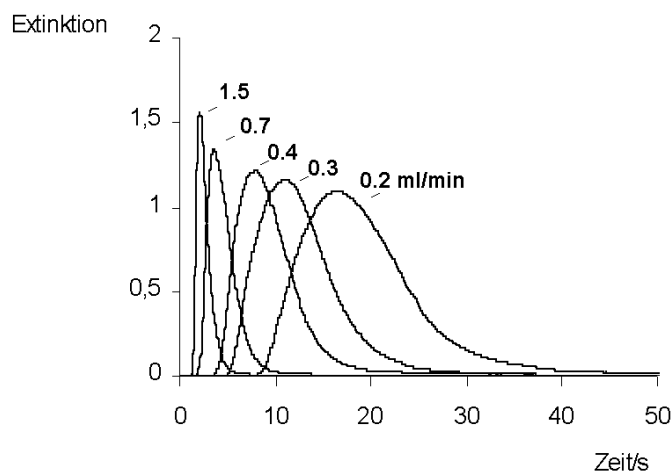


Abbildung 22: Signale einer Aktinometerlösung ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ mol/L) ohne Integration einer Kapillare in das FIA-System bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten zur Bestimmung von T_0 . Detektionswellenlänge $\lambda = 300$ nm.

Erfolgte die Auswertung nach Methode 2, ergaben sich um die Faktoren 1,15 - 1,58 erhöhte Verweilzeiten in der Kapillare im Vergleich zu Methode 1, dargestellt in Tabelle 3 (Versuchsdurchführung: Kapitel 4.2.1.).

Tabelle 3: Verweilzeiten einer Aktinometerlösung ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ mol/L) im FIA-System ohne Integration einer Reaktionsschleife bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten ($n = 6$).

Methode 2: mittlere Verweilzeit T . Methode 1: Zeit des Peakmaximums T_{\max} .

Tag 1:

Flußrate F [mL/min]	Methode 2 mittlere Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Methode 1 Zeit des Peakmaximums T_{\max} [s]	sdv(T_{\max}) [s]	T/T_{\max}
0,2	19,53	0,304	16,95	0,345	1,15
0,4	9,93	0,187	8,35	0,207	1,19
0,7	5,55	0,216	4,50	0,194	1,23
1	3,87	0,258	3,07	0,216	1,26
1,5	2,58	0,293	1,78	0,222	1,45

Tag 2:

Flußrate F [mL/min]	Methode 2 mittlere Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Methode 1 Zeit des Peakmaximums T_{\max} [s]	sdv(T_{\max}) [s]	T/T_{\max}
0,2	19,52	0,301	16,30	0,189	1,20
0,4	9,74	0,197	8,12	0,256	1,20
0,7	5,60	0,150	4,40	0,182	1,27
1	3,95	0,158	3,00	0,156	1,32
1,5	2,65	0,243	1,68	0,287	1,58

Tag 3:

Flußrate F [mL/min]	Methode 2 mittlere Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Methode 1 Zeit des Peakmaximums T_{\max} [s]	sdv(T_{\max}) [s]	T/T_{\max}
0,2	19,73	0,258	16,85	0,287	1,17
0,4	9,65	0,295	8,35	0,296	1,16
0,7	5,45	0,208	4,55	0,254	1,20
1	3,77	0,302	3,20	0,315	1,18
1,5	2,44	0,277	1,65	0,205	1,48

Die Werte an den verschiedenen Tagen unterschieden sich jedoch nicht signifikant. Die Produkte (Volumen $V_0 = F \cdot T_0$) aus Flußrate F und Verweilzeit ohne Integration der Kapillaren T_0 ergaben nur vergleichbare Werte, wenn nach Methode 2 ausgewertet wurde.

Tabelle 4: Berechnete Volumina V_0 ohne Integration der Kapillaren in das FIA-System bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten ($n = 6$). Auswertung nach Methode 2 - (Die Angaben der Standardabweichungen beruhen auf den Standardabweichungen der Verweilzeiten $\text{sdv}(T)$, wobei der Fehler durch die Flußrate vernachlässigt wurde).

Flußrate F [mL/min]	Tag 1 Volumen V_0 [μL]	sdv(V) [μL]	Tag 2 Volumen V_0 [μL]	sdv(V) [μL]	Tag 3 Volumen V_0 [μL]	sdv(V) [μL]
0,2	65,1	1,01	65,07	1,00	65,78	0,86
0,4	66,2	1,25	64,93	1,31	64,30	1,97
0,7	64,8	2,52	65,33	1,75	64,75	2,43
1	64,4	4,30	65,83	2,63	64,50	5,03
1,5	64,6	7,33	66,25	6,08	64,50	6,93

Das nach Methode 1 ermittelte Volumen war von der Flußrate abhängig und betrug z.B. 44,5 μL bei 1,5 mL/min Flußrate und 54,8 μL bei 0,2 mL/min Flußrate. Die Verweilzeiten im System sollten umgekehrt proportional zur Flußrate sein. Das Auftragen der Verweilzeiten gegen die Fließgeschwindigkeit ergab jedoch nur nach Methode 2 folgende hyperbolische Darstellung:

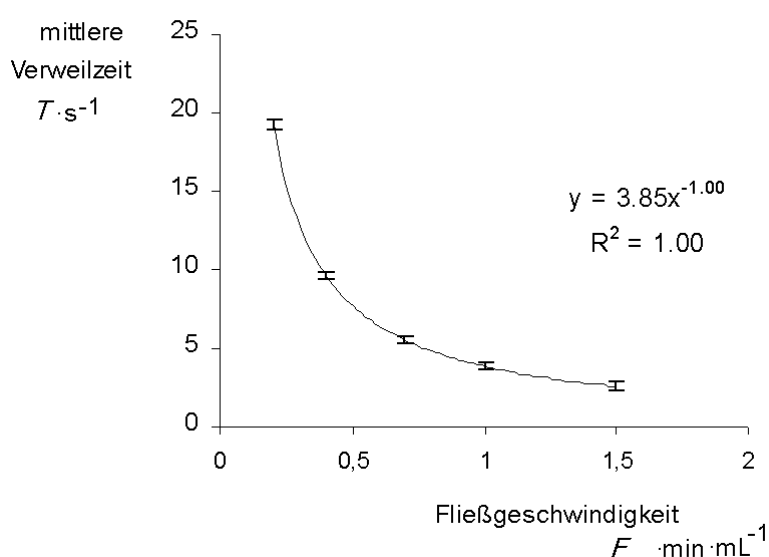


Abbildung 23: Darstellung der Mittelwerte der mittleren Verweilzeiten T_0 ($n = 18$) in Abhängigkeit von der Fließgeschwindigkeit ohne Integration der Kapillaren in das FIA-System (Werte aus Tabelle 3).

Eine Auswertung nach Methode 1 zur Bestimmung von T_0 war somit nicht geeignet, da aufgrund der kurzen Verweilzeit im System die Peaks nicht gaussförmig waren.

3.2.2.3 Bestimmung der Verweilzeiten nach Integration der Reaktionskapillaren

Die Bestrahlungszeiten der Substanzen in den Reaktionsschleifen wurden durch die Veränderungen der Fließgeschwindigkeit, des Kapillarvolumens und durch Unterbrechen der Pumpentätigkeit zum Zeitpunkt des Verweilens des Bolus in der Reaktionsschleife variiert.

3.2.2.3.1 Veränderung der Fließgeschwindigkeit

Die Bestrahlungszeiten in den verschiedenen Kapillaren wurden immer bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten bestimmt, wobei sich signifikante Unterschiede zwischen den Auswertemethoden 1 und 2 vor allem bei hohen Flußraten ergaben.

Bei niedrigen Flußraten ($F \leq 0,7$ mL/min), ergaben sich für die mittleren Verweilzeiten selbst bei kurzen Kapillaren ($l = 1$ m) keine signifikanten Unterschiede nach t -Test (Wahrscheinlichkeit $P = 0,95$; Freiheitsgrad $f = 10$) zwischen den Auswertemethoden 1 und 2, so daß die weniger aufwendige Methode 1 vorzuziehen war.

Tabelle 5: Bestimmung der Verweilzeiten (Methode 1 und Methode 2) im Gesamtsystem nach Integration einer ETFE-Kapillare ($l = 1$ m, $ID = 0,254$ mm) ($n = 6$).

gehäkelte Kapillare:

Flußrate F [mL/min]	Methode 2 mittlere Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Methode 1 Zeit des Peakmaximums T_{\max} [s]	sdv(T_{\max}) [s]
0,2	33,87	0,445	34,24	0,376
0,4	17,35	0,376	17,60	0,381
0,7	10,03	0,437	10,47	0,436
1	7,08	0,397	7,51	0,366
1,5	3,97	0,236	4,26	0,187

Die Entscheidung, ob die Bestrahlungszeiten nach Methode 1 oder 2 ausgewertet werden, sollte anhand der Peakprofile und deren Symmetrie erfolgen. Die Symmetriefaktoren S_s bestimmt nach Gleichung 22 [99] variierten von 1,02 (bei $F = 0,2$ mL/min) bis zu 1,5 (bei $F = 1,5$ mL/min). Um mit Methode 1 auszuwerten, sollten die Symmetrie-

faktoren $S_s \leq 1,1$ sein, da sich diese bei einer Flußrate von 0,7 mL/min ergaben und sich dort kein signifikanter Unterschied zwischen den Methoden mehr feststellen lassen konnte.

$$S_s = b_{0,05}/A$$

Gleichung 22: S_s = Symmetriefaktor (tailing-Faktor); $b_{0,05}$: Peakbreite bei einem Zwanzigstel der Peakhöhe; A: Entfernung zwischen der durch das Maximum des Peaks gezogenen Senkrechten und dem aufsteigenden Kurvenast bei einem Zwanzigstel der Peakhöhe nach [99]

3.2.2.3.2 Veränderung der Form und Art der Reaktionsschleifen

Die Form und Art der Reaktionsschleifen konnte durch Variation der Länge und des Innendurchmessers der verwendeten Schläuche sowie durch das Häkeln der Kapillaren verändert werden. Durch das Einbringen von Windungen wurden die Peaks schmäler (vgl. Kapitel 2.1.2.2.).

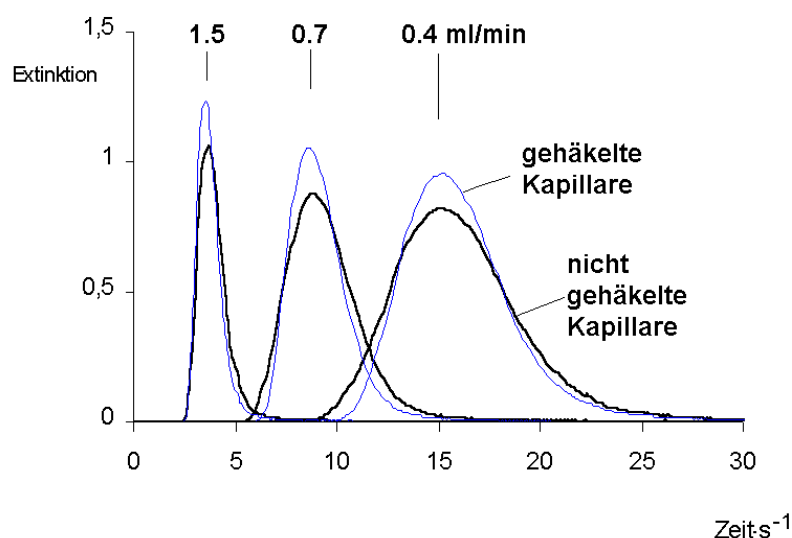


Abbildung 24: Signale (UVD) einer Aktinometerlösung ($c = 4 \cdot 10^{-3}$ mol/L) nach Integration einer ETFE-Kapillare ($l = 1$ m, $ID = 0,254$ mm) in das FIA-System vor bzw. nach dem Häkeln bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten (0,4; 0,7 und 1,5 mL/min). Detektionswellenlänge $\lambda = 300$ nm.

Die Bestrahlungszeiten, berechnet sowohl nach Methode 1 als auch nach Methode 2, veränderten sich erwartungsgemäß nicht signifikant (vgl. Tabelle 5 und 6).

Tabelle 6: Bestimmung der Verweilzeiten (Methode 1 und Methode 2) im Gesamtsystem nach Integration einer ETFE-Kapillare ($l = 1$ m, $ID = 0,254$ mm) ($n = 6$).

nicht gehäkelte Kapillare:

Flußrate F [mL/min]	Methode 2 mittlere Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Methode 1 Zeit des Peakmaximums T_{\max} [s]	sdv(T_{\max}) [s]
0,2	33,70	0,533	33,85	0,441
0,4	17,44	0,580	17,80	0,376
0,7	9,98	0,394	10,39	0,368
1	7,01	0,460	7,39	0,502
1,5	3,95	0,237	4,28	0,194

Aus den erhaltenen Peaks konnte zusätzlich der Einfluß der Windungen auf die Peakhöhe bestimmt werden. Die Peakverbreiterung durch Dispersionsprozesse im Photoreaktor ließ sich dadurch näher charakterisieren. In Anlehnung an Gleichung 3 (Kapitel 2.1.2.2.) wurden die Dispersionskoeffizienten als Verhältnisse der Peakhöhen nach und vor dem Häkeln der Reaktionsschleifen berechnet. Der Effekt der Peakverschmälerung durch das Einfügen von Windungen wirkte sich v.a. bei langen Kapillaren mit großem Innendurchmesser und bei niedrigen Fließgeschwindigkeiten aus.

Tabelle 7: Bestimmung der Dispersionskoeffizienten D als Verhältnisse der Peakhöhen nach und vor dem Häkeln der Reaktionsschleifen ($n = 6$).

Fließ- geschwindig- keit F [mL/min]	Kapillare 1 $l = 1$ m $ID = 0,254$ mm	Kapillare 2 $l = 5$ m $ID = 0,254$ mm	Kapillare 3 $l = 5$ m $ID = 0,254$ mm	Kapillare 4 $l = 5$ m $ID = 0,3$ mm	Kapillare 5 $l = 15$ m $ID = 0,254$ mm
0,2	0,87	0,83	0,79	0,65	0,47
0,4	0,86	0,79	0,80	0,62	0,56
0,8	0,85	0,80	0,81	0,70	0,66

Bei längeren Verweilzeiten war der Effekt der Peakverschmälerung größer, wobei sich dies durch eine Verlängerung der Kapillaren, Vergrößerung des Innendurchmessers oder durch Herabsetzen der Flußrate erzielen ließ. Eine Variation der Bestrahlungszeit durch

Veränderung des Innendurchmessers oder der Länge der Kapillare war immer mit einem Wechsel der Kapillaren verbunden und dadurch aufwendig. Bei einer Variation des Innendurchmessers war die Verwendung von Kapillaren aus Schläuchen unterschiedlicher Chargen erforderlich, während die Herstellung von Kapillaren unterschiedlicher Länge aus Schläuchen der gleichen Chargen möglich war. Weiterhin bewirkte eine Zunahme des Innendurchmessers der Kapillaren eine starke Zunahme der Dispersion. Durch den Einsatz längerer Kapillaren wurde das Peakprofil zunehmend gaussförmiger. Grundsätzlich war zu vermerken, daß Windungen der Peakverbreiterung entgegensteuern, aber dadurch die Bestrahlungszeiten nicht verändert wurden.

Die Verweilzeiten (Methode 2) im Gesamtsystem für Kapillaren unterschiedlicher Länge sind im Gegensatz zu den Bestrahlungszeiten nicht direkt proportional zur Länge, da das Volumen V_0 und damit T_0 mitberücksichtigt werden muß. Ein linearer Zusammenhang, inklusive signifikant von Null verschiedener Achsenabschnitt, wurde aber erwartet, falls keine signifikanten Unterschiede (bezüglich I und ID) zwischen den Kapillaren auftraten. Um zu prüfen, ob der Einsatz von Kapillaren unterschiedlicher Länge zur Variation der Bestrahlungszeit geeignet war, wurden zunächst die Verweilzeiten T in Kapillaren unterschiedlicher Länge I bei drei Flußraten F bestimmt. Anschließend wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt (Versuchsdurchführung Kapitel 4.2.3.). Die Kapillarlängen I wurden jeweils um 4 cm der angegebenen Länge verlängert. Dies war für zukünftige Messungen mit eingeschalteter Strahlungsquelle sinnvoll, da nur der sich direkt in Kontakt mit dem Strahler befindliche Teil der Reaktionsschleife berücksichtigt werden sollte. Verlängert man die Reaktionskapillaren, um damit die Bestrahlungszeit zu erhöhen, sollte der Zu- bzw. Ablauf nicht miteinbezogen werden. Diese Enden wurden daher mit strahlungsundurchlässigem Klebeband abgeschirmt (siehe dazu auch Kapitel 3.2.2.1.).

Folgende Voraussetzungen für eine lineare Regression wurden überprüft:

Normalverteilung der Daten

Zur Prüfung auf Normalverteilung wurde der gängige Test nach David auf dem 10 % Niveau ($\alpha = 0,1$) durchgeführt, wobei sich die Prüfgröße T_d berechnet nach [100]:

$$T_d = R/SA$$

Gleichung 23: R = Spannweite der Stichprobe ($y_{\max} - y_{\min}$); SA = Standardabweichung der Stichprobe

Die Werte waren in der Regel normalverteilt, wobei geringe Abweichungen von der Normalverteilung vernachlässigt werden können [100].

Gleichheit der Varianzen

Die Prüfung auf Gleichheit der Varianzen erfolgte mittels F -Test [$P = 0,9$; $f_1 = 5$, $f_2 = 5$] [101] und dem häufiger angewendeten G -Test [$P = 0,95$, k (Anzahl der Gruppen) = 5; v (Anzahl der Freiheitsgrade für jede Gruppenvarianz) = 5] nach Cochran [100].

Die Prüfgröße G_{\max} berechnet sich hierbei nach:

$$G_{\max} = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{j=1}^n s_j^2}$$

Gleichung 24: s_{\max}^2 = größte beobachtete Varianz, s_j^2 = Varianz des Signals der Kalibrierprobe

Es konnten keine Hinweise für eine Unheimlichkeit der Varianzen beobachtet werden, so daß diese Voraussetzung angenommen wurde.

Fehlerfreiheit der unabhängigen Variablen x

Die Variable x war in diesem Fall die Länge l der eingesetzten Kapillaren, wobei diese selbst hergestellt wurden und damit der Fehler nicht berücksichtigt wurde. Die vom Hersteller erhältlichen Kapillaren hingegen werden mit einem Fehler von ± 10 cm angegeben.

Linearität

Die graphische Darstellung der Verweilzeiten in Abhängigkeit von der Länge der Kapillare ließen auf einen linearen Zusammenhang schließen (Werte: siehe Anhang 1):

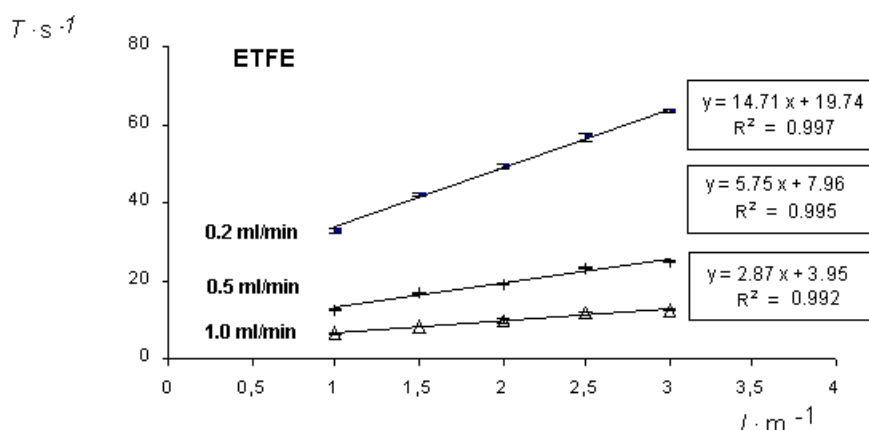


Abbildung 25: ETFE: Graphische Darstellung der mittleren Verweilzeiten ($n = 20$) in Abhängigkeit von der Länge der Reaktionsschleifen (ETFE) bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten (0.2, 0.5, 1.0 mL/min). Fehlerindikatoren: $\pm \text{sdv}(T)/s$.

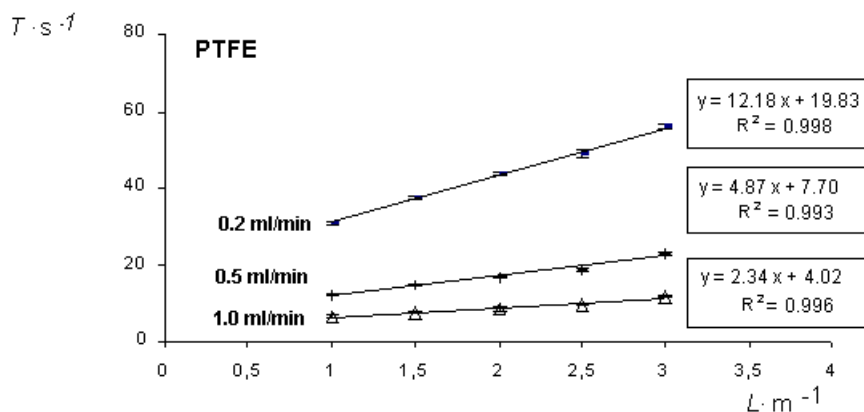


Abbildung 26: PTFE: Grafische Darstellung der mittleren Verweilzeiten ($n = 20$) in Abhängigkeit von der Länge der Reaktionsschleifen (PTFE) bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten (0.2, 0.5, 1.0 mL/min). Fehlerindikatoren: $\pm \text{sdv}(T)/s$.

Die lineare Regressionsanalyse ergab folgende Ergebnisse:

Material der Reaktions- schleife	Flußrate F [mL/min]	Steigung m [s/m]	sdv (m) [s/m]	Achsen- abschnitt b [s]	sdv (b) [s]	Korre- lations- koeffizient R^2	Standardfehler des Schätzwertes y ; sdv (y) [s]
PTFE	0,2	12,18	0,160	19,83	0,339	0,998	0,505
PTFE	0,5	4,87	0,094	7,70	0,199	0,993	0,297
PTFE	1,0	2,34	0,067	4,02	0,141	0,996	0,211
ETFE	0,2	14,71	0,185	19,74	0,392	0,997	0,585
ETFE	0,5	5,75	0,093	7,96	0,197	0,995	0,295
ETFE	1,0	2,87	0,061	3,95	0,128	0,992	0,191

Aus den Achsenabschnitten konnten die entsprechenden Verweilzeiten im Gesamtsystem ohne Integration der Kapillaren T_0 ermittelt werden. Die ermittelten Werte entsprachen den durch Methode 2 praktisch bestimmten Verweilzeiten ohne Reaktionsschleife T_0 . Die aus den Werten berechneten Volumina V_0 waren mit den durch Methode 2 ermittelten Volumina (siehe Kapitel 3.2.2.2.; Tabelle 4) vergleichbar. In diesem Falle war die Bestimmung von T_0 direkt aus den Werten von T_{ges} bestimmbar und damit könnte auf die praktische Bestimmung von T_0 verzichtet werden.

Tabelle 8: Formale Berechnung der Volumina V_0 aus den Achsenabschnitten (siehe Abbildung 26 und 27).

Fließgeschwindigkeit F [mL/min]	ETFE V [μL]	ETFE $\text{sdv}(V)$ [μL] ³	PTFE V [μL]	PTFE $\text{sdv}(V)$ [μL]
0,2	65,8	1,31	66,1	1,23
0,5	66,4	1,64	64,2	1,67
1,0	65,7	2,13	69,1	2,45

Ein weiterer Hinweis für den linearen Zusammenhang ergab sich aus der graphischen Darstellung der Bestrahlungszeiten T_{hv} in Abhängigkeit von der Länge l der Kapillaren. Bei der Berechnung der Bestrahlungszeiten war zu beachten, daß diese aus einer Differenz zweier praktisch bestimmter Größen mit einer bestimmten Präzision resultierten. Unter der vereinfachten Annahme, daß T_{Ges} und T_0 zwei voneinander unabhängige Variablen darstellen, addieren sich bei der Fehlerfortpflanzung die zugehörigen Varianzen [102]. Die Bestrahlungszeiten wurden berechnet nach Gleichung 19 und auf 1 m Kapillarlänge bezogen⁴. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Bestrahlungszeiten pro Meter Kapillare in Abhängigkeit von der Länge der Kapillare, so daß auf lediglich geringe Abweichungen (innerhalb der Meßgenauigkeit) zwischen Kapillaren aus Schläuchen einer Charge geschlossen werden konnte. Die Überprüfung der Linearität konnte als Maß für die Gleichförmigkeit der Kapillaren genutzt werden.

³ Die Standardabweichungen des Volumens wurden aus den Standardabweichungen des Achsenabschnitts berechnet. Der Fehler durch die Fließgeschwindigkeit wurde vernachlässigt.

⁴ $T_0 = 3,85/0,02 \text{ s} = 19,25 \text{ s}$ nach Abbildung 23;
 T_{ges} : nach Abbildung 25 und 26 (Werte: Anhang 1)

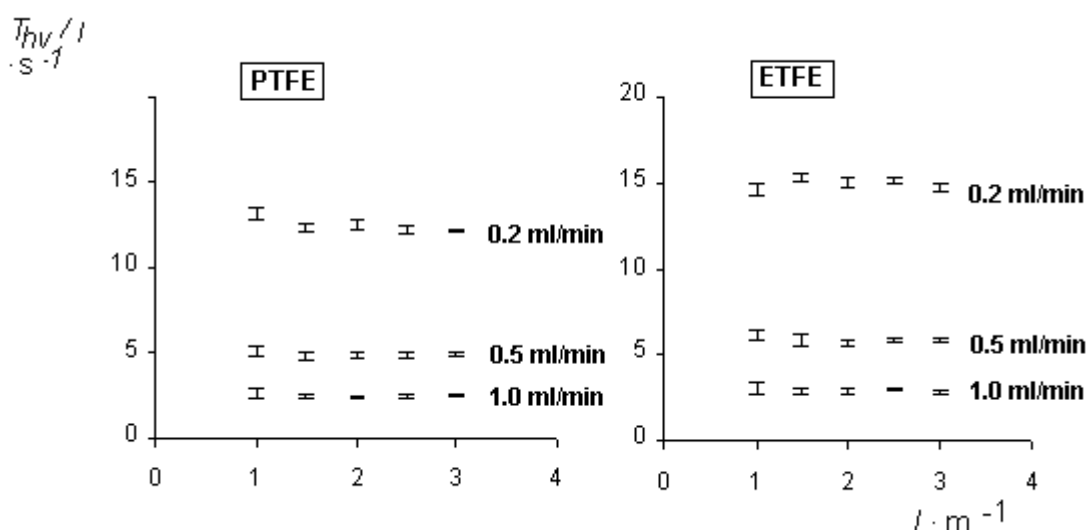


Abbildung 27: Darstellung der Bestrahlungszeiten T_{hv} pro Länge l der Kapillaren. Fließgeschwindigkeiten: 0,2; 0,5; 1,0 mL/min. ETFE und PTFE Kapillaren [$ID = 0,254$ mm (nach Herstellerangaben), $l = 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0$ m]. Fehlerindikatoren: \pm sdv [$(T - T_0)/l$]/m·s.

Für die Bestimmung der Bestrahlungszeiten in einer Kapillare war in der Regel eine Fließgeschwindigkeit ausreichend, da sich die Produkte ($T_{hv} \cdot F$) aus Bestrahlungszeiten T und Fließgeschwindigkeit F und damit das bestrahlte Volumen V_{hv} , nicht signifikant unterschieden. Die Steigungen der Geraden, und damit auch die Bestrahlungszeiten, unterschieden sich aber zwischen Kapillaren, die aus unterschiedlichen Schläuchen gefertigt wurden, signifikant. Die theoretischen Steigungen ($ID = 0,254$ mm) betrugen 15,20 s/m für $F = 0,2$ mL/min, 6,08 s/m für $F = 0,5$ mL/min und 3,04 s/m für $F = 1$ mL/min. Die Bestrahlungszeiten sind abhängig von der Flußrate und dem Volumen der Kapillare. Da die Achsenabschnitte der Geraden vergleichbar waren und diese ebenfalls von der Flußrate abhängig sind, dürfte dieser Parameter nicht der entscheidende sein. Die Länge der Kapillaren wurde als fehlerlos angenommen, da sie selbst gefertigt wurden. Aus den Steigungen der PTFE Kapillaren wurden daher formal die durchschnittlichen Innendurchmesser der eingesetzten Schläuche berechnet.

Tabelle 9: Berechnung der Innendurchmesser der Kapillaren aus den Steigungen der Graphen (Abbildung 25 und 26) bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten.

Fließgeschwindigkeit F [mL/min]	ETFE		PTFE	
	ID [mm]	sdv(ID) [mm]	ID [mm]	sdv(ID) [mm]
0,2	0,250	0,0280	0,227	0,0260
0,5	0,247	0,0315	0,227	0,0316
1,0	0,247	0,0358	0,223	0,0376

Der theoretische Innendurchmesser nach Herstellerangaben beträgt $0,254 \text{ mm} \pm 0,0254 \text{ mm}$, die berechneten Werte der ETFE Schläuche lagen somit im vorgegebenen Intervall, wohingegen sich die Werte der PTFE Schläuche an der unteren Grenze befanden. Die Standardabweichungen resultierten aus der Standardabweichungen der Steigungen.

3.2.2.3.3 Unterbrechen der Pumpentätigkeit

Eine Probe in das Trägersystem zu injizieren und ihren Vorwärtstransport zu stoppen, ist die effektivste Methode, die Verweilzeit zu erhöhen und zunehmende Dispersion zu verhindern [20]. Die Dispersion ist, abgesehen von einem geringen Anteil an molekularer Diffusion, vernachlässigbar.

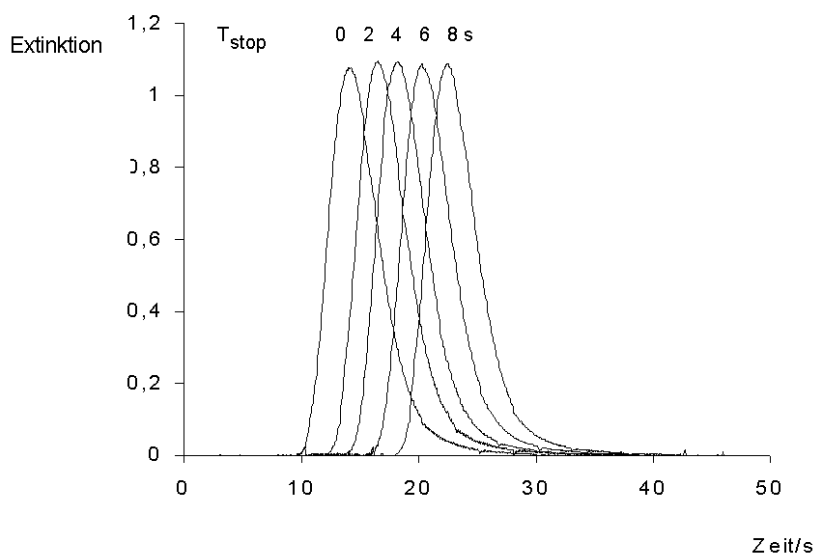


Abbildung 28: Signale einer Aktinometerlösung ($c = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$) nach Integration einer ETFE-Kapillare ($l = 1 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$) in das FIA-system und Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 2, 4, 6 und 8 s. Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$; Detektionswellenlänge $\lambda = 300 \text{ nm}$.

In einer Tefzel-Kapillare (ETFE, $ID = 0,254 \text{ mm}$, $l = 5 \text{ m}$) war erst nach 2 Stunden ($T_{\text{stop}} = 2 \text{ h}$) eine signifikanten Veränderung des Peakprofiles unter Abnahme der Peakhöhe ($> 2 \%$) zu verzeichnen.

Das Unterbrechen der Pumpentätigkeit sollte zum Zeitpunkt des Verweilens des Bolus in der Kapillare erfolgen. Damit eine vollständige Bestrahlung des Bolus erfolgen konnte, sollte die Substanz vollständig die Reaktionsschleife erreicht haben.

Ein Maß für die untere Grenze der Unterbrechung des Durchflusses nach der Injektion waren die erhaltenen Peakprofile, die ohne Integration der Schleife erhalten worden sind (vgl. Abbildung 22, Kapitel 3.2.2.2.).

Das Stoppen der Pumpe erfolgte nach der minimalen Stoppzeit (T_{\min}), d.h. nach vollständigem Passieren der Substanz durch das System ohne Kapillare. Die Stoppzeit sollte für jede Fließgeschwindigkeit neu definiert werden. Ein Maß für die obere Grenze der Unterbrechung des Durchflusses nach der Injektion war das Erscheinen der Substanz in der Detektorzelle. Bei der Verwendung von kurzen Kapillaren überlagerten sich die Peakprofile (Abbildung 29), so daß diese Methode nur bei längeren Kapillaren ($l > 3 \text{ m}$) angewendet werden konnte.

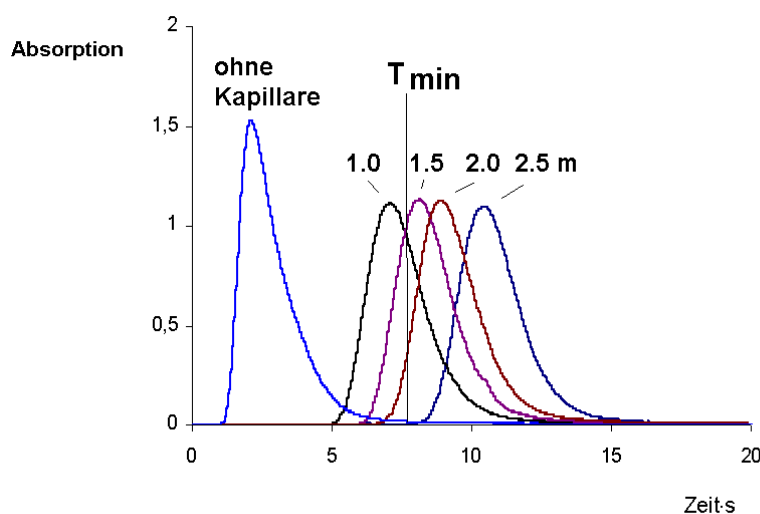


Abbildung 29: Signale einer Aktinometerlösung ($c = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$) ohne und mit Integration von Reaktionsschleifen unterschiedlicher Länge (1,0; 1,5; 2,0 und 2,5 m) in das FIA-system. Fließgeschwindigkeit $F = 1,0 \text{ mL/min}$; Detektionswellenlänge $\lambda = 300 \text{ nm}$.

Die Bestrahlungszeiten T_{hv} bei der Methode des Stoppens lassen sich berechnen nach :

$$T_{\text{hv}} = T_{\text{Ges}} + T_{\text{stop}} - T_0$$

Gleichung 25: T_{Ges} : mittlere Verweilzeit im Gesamtsystem (mit Reaktionskapillare) [s]; T_0 : Verweilzeit ohne Integration der Kapillare [s]; T_{hv} : Bestrahlungszeit [s]; T_{stop} : Zeit des Unterbrechens der Pumpentätigkeit [s].

3.2.2.3.4 Einfluß der Temperatur

Das Erwärmen der Reaktionskapillaren führte zu einer Veränderung des Peakprofils. Die Peaks wurden schmaler, wobei sich die Verweilzeiten nicht veränderten. Eine Erhöhung der Temperatur auf 50°C bewirkte eine Zunahme der Peakhöhe um den Faktor 1,2 im Vergleich zur Peakhöhe bei 20°C (in einer selbstgefertigten ETFE-Kapillare, $l = 2 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$).

Dieser Effekt wurde auch bei der photochemischen Nachsäulenbestrahlung beschrieben und kann dort als sinnvolle Methode zur Intensitätserhöhung der Signale genutzt werden. Scholten *et al.* beobachteten bei der Umsetzung von Phenothiazinen eine Verringerung der Peakbreite nach Bestrahlung, wobei dieser Effekt auch lediglich bei höheren Temperaturen ohne Bestrahlung auftrat [103]. Die hier festgestellten signifikanten Unterschiede ließen sich nicht alleine auf die Detektion (Die UV-Detektion ist zudem weniger temperaturabhängig als die amperometrische Detektion) zurückführen. Als ausschlaggebende Komponente war die Zunahme der Diffusionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur anzunehmen. Der Diffusionskoeffizient D_{diff} ist direkt proportional zur Temperatur [104]. Aufgrund des Anstiegs der radialen Diffusion wurde der parabolischen Aufweitung des Flußprofiles entgegen gewirkt, wobei die Peaks schmaler wurden. Da die photochemischen Umsetzungen sowohl mit als auch ohne Kühlung durchgeführt wurden, mußte dieser Temperatureffekt im Folgenden bei der Auswertung der Peakhöhen berücksichtigt werden. Eine Auswertung über die Peakflächen war deshalb vorzuziehen.

3.2.2.4 Vergleich der eingesetzten Reaktionsschleifen

Die Bestrahlungszeiten T_{hv} ($T_{\text{hv}} = T - T_0$) der Kapillaren wurden jeweils praktisch bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,2 mL/min bestimmt und mit dem theoretisch berechneten Wert verglichen. Für T_0 wurde bei den selbstgefertigten Kapillaren 19,53 s ($\pm 0,304$ s) eingesetzt, welches dem Wert nach Integration eines 4 cm langen Schlauches der Kapillare entsprach (siehe Kapitel 3.2.2.2.). Eine Verlängerung der handelsüblichen Kapillaren war nicht möglich, daher wurde für $T_0 = 18,92$ s ($= 19,13$ s - 0,61 s) eingesetzt, wobei 0,61 die theoretische Verweilzeit in einem Schlauch mit $l = 4$ cm und $ID = 0,254$ mm darstellte. Aufgrund der kurzen Strecke wurden dabei eventuelle Fehler durch verschiedene Innendurchmesser vernachlässigt. Die theoretischen Bestrahlungszeiten werden als Intervall, das auf der Genauigkeit des Innendurchmessers und, bei Herstellerangaben, auf der Genauigkeit der Länge (± 10 cm) beruht, angegeben. In einer Reaktionskapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,3$ mm) betrug die mittlere Bestrahlungszeit bei einer Flußrate von 0,2 mL/min 86,75 s, während sie in einer anderen Kapillare vergleichbarer Ausmaße 129,20 s betrug (siehe Tabelle 10). Beide Werte lagen im vorgeschriebenen Intervall, wenn man die Fehler der Herstellerangaben für Länge und Innendurchmesser berücksichtigt, wobei sich die Werte jedoch um den Faktor 1,5 unterschieden! Vergleichende Untersuchungen erforderten demnach die praktische Bestimmung der Bestrahlungszeiten.

Tabelle 10: Bestimmung der Bestrahlungszeiten T_{hv} ($T_{\text{hv}} = T - T_0$) der verwendeten Kapillaren bei einer Flußrate von 0,2 mL/min; (n = 4).
(1: selbst gefertigte; 2: käuflich erworbene Reaktionsschleife)

Material	Länge [m] ⁵	ID_{theo} [mm] ⁶	1/2	T_{theo} [s]	T_{hv} [s]	sdv(T_{hv}) [s]	berechneter ID [mm]
ETFE	1	0,254	1	12,31 - 18,39	14,73	0,369	0,250
ETFE	1	0,254	1	12,31 - 18,39	14,37	0,498	0,247
ETFE	1,5	0,254	1	18,47 - 27,59	23,15	0,441	0,256
ETFE	2,0	0,254	1	24,63 - 36,79	30,28	0,483	0,254
ETFE	2,5	0,254	1	30,78 - 45,93	37,77	0,439	0,253
ETFE	3	0,254	1	36,94 - 55,18	44,20	0,567	0,250
ETFE	5	0,254	1	61,56 - 91,97	76,00	0,372	0,254
ETFE	5	0,254	1	61,56 - 91,97	76,57	0,372	0,257
ETFE	15	0,254	1	184,70 - 275,90	46,70	0,372	0,249
hochdruck stabil	5	0,3	2	84,16 - 130,86	86,75	0,389	0,271
PTFE	1	0,254	1	12,31 - 18,39	13,25	0,367	0,237
PTFE	1	0,254	1	12,31 - 18,39	12,17	0,305	0,227
PTFE	1,5	0,254	1	18,47 - 27,59	18,70	0,394	0,230
PTFE	2	0,254	1	24,63 - 36,79	25,05	0,394	0,231
PTFE	2,5	0,254	1	30,78 - 45,93	30,55	0,464	0,228
PTFE	3	0,254	1	36,94 - 55,18	37,77	0,410	0,231
PTFE	5	0,254	1	61,56 - 91,97	61,92	0,385	0,229
PTFE	5	0,3	2	84,16 - 130,86	129,20	0,429	0,331
PTFE	5	0,3	2	84,16 - 130,86	140,80	0,441	0,346
PTFE	5	0,3	2	84,16 - 130,86	101,83	0,321	0,294

⁵ Die Angaben der Längen der Kapillaren erfolgte nach Herstellerangaben bei erworbenen Reaktionsschleifen und nach eigenen Angaben bei selbstgefertigten Kapillaren

⁶ nach Herstellerangaben (Fehler 10 %)

3.2.3 Bestimmung der Strahlungsintensitäten

3.2.3.1 Berücksichtigung der Verhältnisse im Durchfluß

Aktinometrische Messungen werden in der Regel durchgeführt, um die eingestrahlte Intensität I_0 zu bestimmen. Dies setzt voraus, daß in einem Konzentrationsbereich gearbeitet wird, in dem alle auftreffenden Photonen absorbiert werden, so daß der Abbau von Fe^{3+} mit einer Gleichung 0. Ordnung beschrieben werden kann.

Durch die Variation der Bestrahlungszeit T_{hv} wurde der photochemische Abbau an Fe^{3+} im Durchfluß verfolgt, wobei die Stoffmenge an Fe^{3+} nach einer bestimmten Bestrahlungszeit T_{hv} jeweils anhand der Differenz aus der Stoffmenge an eingesetztem Fe^{3+} und der an gebildetem Fe^{2+} berechnet wurde. Die Stoffmenge an Fe^{2+} konnte aus der Absorption des o-Phenanthrolins nach dem Bouguer-Lambert-Beerschen Gesetz wie folgt berechnet werden:

$$n_{\text{Fe}^{2+}} = \frac{A_{\lambda} \cdot V}{\varepsilon \cdot d}$$

Gleichung 26: $n_{\text{Fe}^{2+}}$: Stoffmenge Fe^{2+} [mol]; A_{λ} : Absorption des Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm ; ε : Absorptionskoeffizient des o-Phenanthrolinkomplexes: $11200 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; V : Volumen des Maßkolbens: 2 mL; d : Schichtdicke [cm]

Sofern im Bereich der Totalabsorption (Reaktion 0. Ordnung) gemessen wird, entspricht die Zahl der absorbierten Photonen der insgesamt auftreffenden Photonen und $I_{\text{abs}}/V = I_a = I_0$. In diesem Falle würde sich ein linearer Abfall der Stoffmenge an Fe^{3+} ergeben.

Diese Voraussetzung ist allerdings unter den allgemeinen Durchflußbedingungen nicht einzuhalten, da die eintretende Dispersion zur Entstehung von Konzentrationsgradienten in der Kapillare führt und damit zu unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten in den verschiedenen Abschnitten des Bolus.

Die Abhängigkeit der Abnahme von Fe^{3+} von der Bestrahlungszeit ist in Abbildung 30 dargestellt.

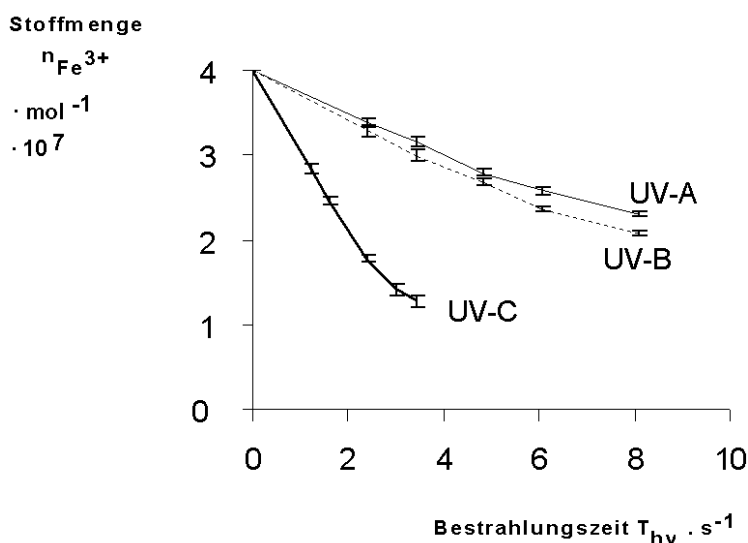


Abbildung 30: Stoffmenge $n_{Fe^{3+}}$ nach Bestrahlung der Aktinometerlösung (0,02 mol/L) in einer Kapillare aus PTFE ($l = 1$ m, $ID = 0,227$ mm) unter Variation der Flußrate (0,7; 0,8; 1,0; 1,5 und 2,0 mL/min (UV-C-Strahler) und 0,3; 0,4; 0,5; 0,7 und 1,0 mL/min (UV-A-Strahler und UV-B-Strahler) ($n = 4$). Werte siehe Anhang 2. Die eingefügten Fehlerindikatoren basieren auf den Standardabweichungen der Absorptionsmessungen.

Eine Reaktion, die durch eine Reaktionsgleichung 0. Ordnung beschrieben werden kann, ist nur bei einer ausreichend hohen Konzentration an Aktinometer-Lösung gegeben. Im allgemeinen Fall hingegen gilt Gleichung 13 (Kapitel 2.2.4.) in Anlehnung an das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz, wobei sowohl die *Schichtdicke als auch die Absorption* und damit die entsprechende Konzentration mit einbezogen werden müssen. Voraussetzung für die Gültigkeit dieses Gesetzes ist zudem das senkrechte Auftreffen der Strahlung auf eine planare Oberfläche, da Streuung und Reflexion an der Probenoberfläche zur Lichtschwächung führen. Aufgrund des zylinderförmigen Reaktionsraums der Kapillaren im Durchfluß-System ist diese Bedingung nicht erfüllt. Da aber die absorbierte Strahlungsintensität und nicht das Restlicht gemessen wurde, wurden diese Parameter mit einbezogen.

Die *Schichtdicke* d war in gehäkelten Kapillaren nicht definierbar, da sich durch die räumliche Anordnung die Schläuche in verschiedenen Winkeln zur einfallenden Strahlung befanden. Dies konnte mit um das Trägersystem gewickelten Kapillaren umgangen werden (siehe Abbildung 18, Kapitel 3.1.1.), wobei die Schichtdicke jedoch durch das Zylindervolumen nicht einheitlich war. Eine Mittelung der Schichtdicke konnte aber über $d_{\text{mittel}} = ID \cdot \pi / 4$ erfolgen.

Eine Proportionalität zwischen der *Absorption* und der absorbierten Strahlungsintensität ist lediglich für Reaktionsbedingungen 1. Ordnung gegeben. Im Übergangsgebiet zwischen 0. und 1. Ordnung muß die inhomogene Verteilung berücksichtigt werden. Im

Laufe der Bestrahlung verändert sich nun die Verteilung der Substanz und führt zu einer Vergrößerung des bestrahlten Gesamtvolumens im Vergleich zum Injektionsvolumen. Bei einem Injektionsvolumen von 20 μL ergab sich bei einer Flußrate von 1 mL/min in einer ETFE Kapillare von 1 m Länge ($ID = 0,250 \text{ mm}$) ein bestrahltes Volumen von ca. 100 μL (siehe Abbildung 31). Eine dispergierte Probe absorbiert bei gleicher Gesamtabsorption mehr Photonen pro Zeiteinheit als eine nicht dispergierte Probe. Der Bereich 1. Ordnung ist ein Ausnahmefall, hier ist die Dispersion aufgrund des proportionalen Zusammenhangs zwischen Absorption und absorbierter Strahlungsintensität vernachlässigbar. Ein dispergierter Bolus absorbiert dann entsprechend viele Photonen wie ein nicht dispergierter Bolus.

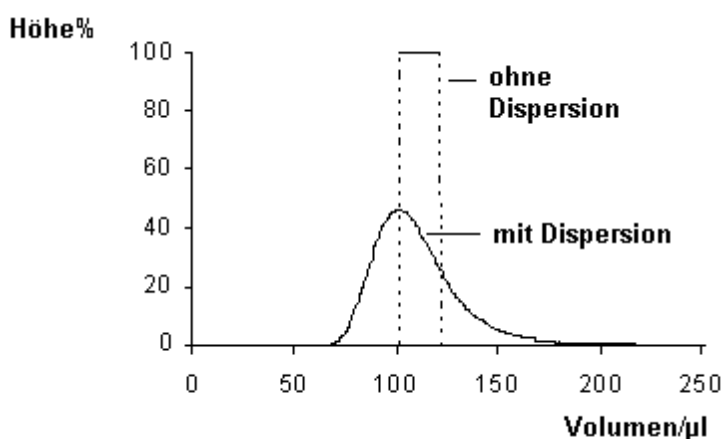


Abbildung 31: Einfluß der Dispersion auf das bestrahlte Volumen am Beispiel der Injektion einer Aktinometer-Lösung ($4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$) in eine Kapillare ($l = 1 \text{ m}$, $ID = 0.250 \text{ mm}$) mit anschließender photometrischer Detektion ($\lambda = 300 \text{ nm}$). Injektionsvolumen $V_i = 20 \mu\text{L}$.

Die Verteilung der Substanz durch die Dispersionsprozesse kann nicht exakt definiert werden. Die erhaltenen Peakprofile der UVD konnten als Anhaltspunkte herangezogen werden, unberücksichtigt blieb aber die zeitliche Veränderung und der Beitrag des UV-Detektors am Dispersionsprozeß (siehe Gleichung 4, Kapitel 2.1.2.2.). Aus diesem Grund war es in dem verwendeten Konzentrationsbereich auch von Bedeutung, ob die Bestrahlungszeit durch Variation der Länge oder der Flußrate erfolgte. Dies zeigte sich bei allen drei eingesetzten Strahlern und bei beiden eingesetzten Materialien (PTFE, ETFE). Die umgesetzte Stoffmenge $n_{\text{Fe}^{3+}}$ war bei der Variation der Flußrate stets höher als bei der Variation der Längen der Kapillaren unter Berücksichtigung der Bestrahlungszeiten.

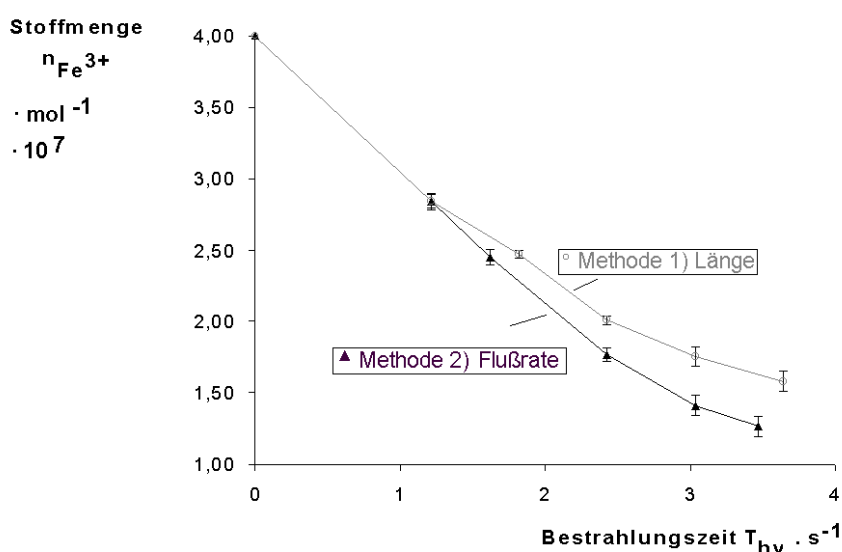


Abbildung 32: Stoffmenge $n_{Fe^{3+}}$ nach Bestrahlung der Aktinometerlösung (0,02 mol/L) in einer Kapillare aus PTFE ($l = 1,0$ m, $ID = 0,227$ mm) unter Variation der Flußrate ($F = 0,7; 0,8; 1,0; 1,5$ und $2,0$ mL/min (UV-C-Strahler) und der Kapillarlänge (1,5; 2,0; 2,5 und 3,0 m); $V_i = 20$ μ L; Werte siehe Anhang 2.

Die eingefügten Fehlerindikatoren basieren auf den Standardabweichungen der Absorptionsmessungen.

Als mögliche Erklärung wurde die unterschiedliche Dispersion herangezogen. Die Dispersion in FIA-Systemen nimmt im allgemeinen mit Abnahme der Fließgeschwindigkeit ab [20], da die parabolische Aufweitung der Probenzone durch geringere Konvektion vermindert ist. Dies gilt selbstverständlich nur, wenn die Verweilzeiten des Bolus konstant bleiben, d.h. bei einer entsprechenden Kompensation durch Verkürzung der Kapillare. Vergleicht man die aufgenommenen Signale der UVD (Abbildung 22, 24 und 29; Kapitel 3.2.2.), so wird deutlich, daß sich die Peakformen durch die Verlängerung der Kapillaren nicht wesentlich ändern, wohingegen die Peakhöhen im Falle des Herabsetzens der Fließgeschwindigkeit deutlich abnehmen. Eine Verlängerung der Bestrahlungszeit bewirkte im letzteren Falle eine stärkere Peakverbreiterung und damit zugleich eine Zunahme des bestrahlten Volumens. Die Umsätze wären damit vergleichsweise höher. Eine Beschreibung der Kinetik konnte somit nur nach der allgemeinen Gleichung 13 (siehe Kapitel 2.2.4.) erfolgen und die absorbierten Strahlungsintensitäten nicht als Einstrahlintensitäten aufgefaßt werden.

Die absorbierten Strahlungsintensitäten wurden in Anlehnung an Gleichung 10, Kapitel 2.2.3. nach folgender Gleichung berechnet:

$$I_{abs} = \frac{n_{Fe^{2+}}}{\varphi \cdot T_{hv}} = \frac{A_{\lambda} \cdot V}{\varepsilon \cdot d \cdot \varphi \cdot T_{hv}}$$

Gleichung 27: I_{abs} : absorbierte Strahlungsintensität [Es/s]; $n_{Fe^{2+}}$: Stoffmenge Fe^{2+} [mol]; φ : Quantenausbeute (hier: 1,2 nach [96]); T_{hv} : Bestrahlungszeit [s]; A_{λ} : Absorption des Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm; ε : Absorptionskoeffizient [$L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$]; V : Volumen des Maßkolbens [L]; Schichtdicke [cm]

3.2.3.2 Vergleichende Untersuchungen der absorbierten Strahlungsintensitäten

Möglich waren vergleichende Untersuchungen der absorbierten Strahlungsintensitäten unter Variation diverser Parameter (Versuchsdurchführung Kapitel 4.3.4.2.).

3.2.3.2.1 Einbrenndauer der Strahler

Die Absorption des *o*-Phenanthrolinkomplexes variierte mit der Einbrenndauer der Strahler. Direkt nach dem Einschalten waren die absorbierten Strahlungsintensitäten gering, sie stiegen in den nächsten Minuten an, fielen nach 20 min ab und stabilisierten sich nach 30 min.

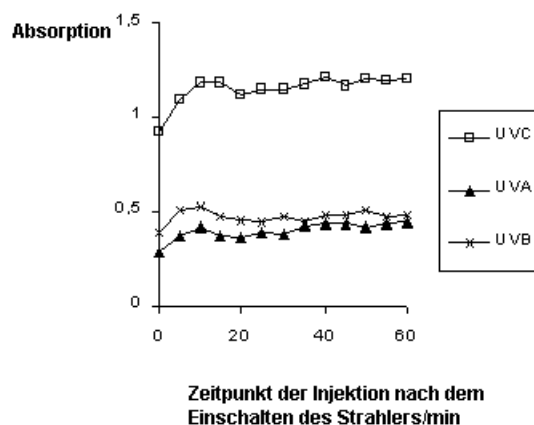


Abbildung 33: Absorption des Fe(II)-Phenanthrolinkomplexes ($\lambda = 510$ nm) nach Injektion der Aktinometer-Lösung und Bestrahlung in einer ETFE Kapillare ($l = 1$ m) unter Einsatz der Kühlung in Abhängigkeit von der Einbrenndauer des Strahlers

Die Strahlungsintensität hängt vom Quecksilberdampfdruck ab, der wiederum eine Funktion der Temperatur ist. Die Einstellung des stabilen Betriebszustandes basiert auf dem Erreichen stabiler Temperaturbedingungen [105]. Bei tiefen Temperaturen ist nicht genug Quecksilber verdampft und der Lichtstrom niedrig. Mit steigender Temperatur wächst mit dem Dampfdruck auch der Lichtstrom, jedoch nur bis zu einem bestimmten Wert. Dann fällt der Lichtstrom wieder, und zwar aufgrund der zunehmenden Selbst-

absorption durch die mit steigender Temperatur immer zahlreicher werdenden nicht angeregten Hg-Atome.

Durchzuführende Messungen sollten daher nach einer Einbrenndauer von mindestens 30 min erfolgen.

3.2.3.2.2 Position der Kapillare

Voraussetzung für eine gleichmäßige Strahlungsverteilung über die Länge des Entladungsrohres ist ein gleichmäßiger Dampfdruck im gesamten Entladungsgefäß. Ein Abfall an den Lampenenden ist nach Herstellerangaben nicht zu vermeiden, so daß der Position der Kapillare eine entscheidende Bedeutung zukommt. Bei Positionierung der Kapillaren an den Enden des Entladungsrohres war eine Abnahme der absorbierten Strahlungsintensität auf ca. 40 % zu verzeichnen. Bei den Versuchen wurde die Reaktionsschleifen immer mittig angeordnet, so daß die berechneten Strahlungsintensitäten auch an verschiedenen Tagen vergleichbar waren (siehe Anhang 3).

3.2.3.2.3 Material der Reaktionsschleife

Die Absorption des Phenanthrolinkomplexes war bei PTFE-Kapillaren grundsätzlich niedriger als bei ETFE Kapillaren, aber da die Bestrahlungszeiten in den PTFE Kapillaren geringer waren, ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Materialien feststellen (Werte siehe Anhang 2 und 4)

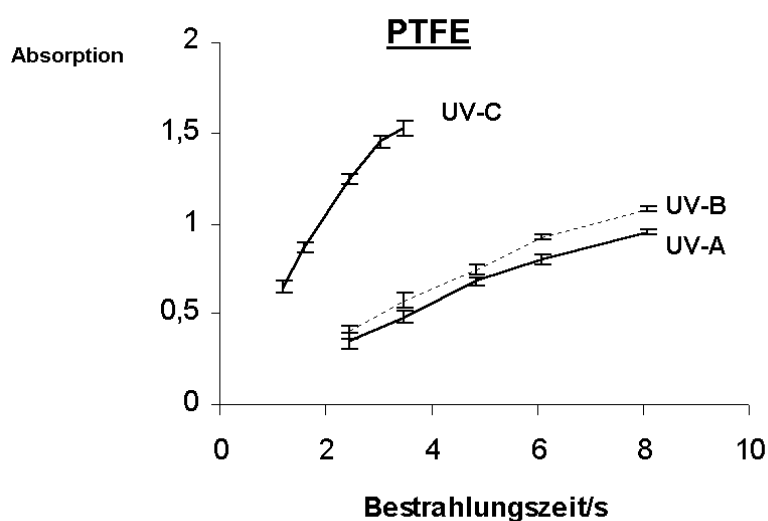


Abbildung 34: Absorption des Fe(II)-Phenanthrolinkomplexes bei Bestrahlung der Aktinometerlösung (0,02 mol/L) in einer Kapillare aus PTFE ($l = 1$ m, $ID = 0,227$ mm).

INCLUDEPICTUREMERGEFORMAT

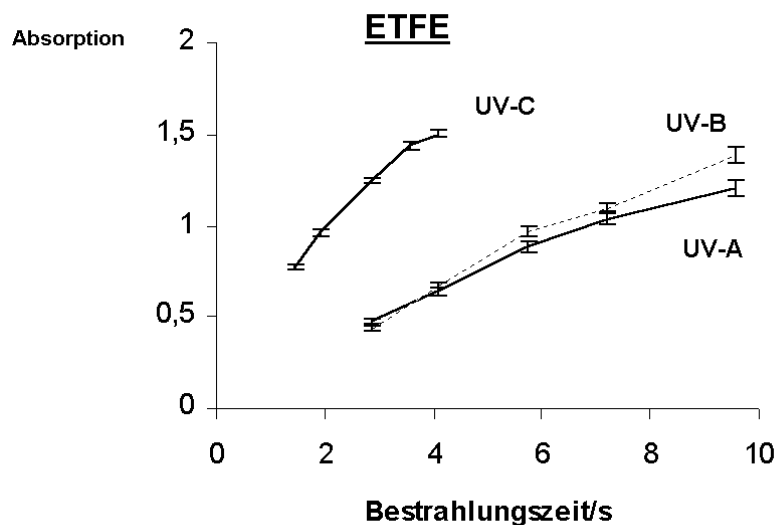


Abbildung 35: Absorption des Fe(II)-Phenanthrolinkomplexes bei Bestrahlung der Aktinometerlösung (0,02 mol/L) in einer Kapillare aus ETFE ($l = 1$ m, $ID = 0,247$ mm).

Um vergleichende Untersuchungen mit einer Quarzkapillare durchführen zu können, wurden kurze Abschnitte der jeweiligen Reaktionsschleifen parallel zum Strahler (Abstand $d = 0,8$ cm) mit Hilfe des Trägersystem positioniert, da eine Häkelung bzw. Wicklung der Quarzkapillaren aufgrund der Sprödigkeit nicht möglich war.

Tabelle 11: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten I_{abs} (Mittelwerte) in Abhängigkeit vom Material der Reaktionsschleifen kurzer, nicht gewickelter Reaktionskapillaren ($l = 12$ cm), die durch ein Trägersystem in einem Abstand von 0,8 cm längs des eingesetzten Strahlers positioniert wurden, bei einer Flußrate von 0,15 mL/min; ($n = 6$).

Strahlungs- quelle	ETFE		PTFE		Quarz	
	I_{abs}	sdv (I_{abs})	I_{abs}	sdv (I_{abs})	I_{abs}	sdv (I_{abs})
	$\cdot 10^8$	$\cdot 10^8$	$\cdot 10^8$	$\cdot 10^8$	$\cdot 10^8$	$\cdot 10^8$
	[Es/s]	[Es/s]	[Es/s]	[Es/s]	[Es/s]	[Es/s]
UV-C	7,26	0,115	7,20	0,101	5,11	0,188
UV-B	3,26	0,254	3,12	0,219	2,15	0,258
UV-A	3,27	0,278	3,24	0,159	2,48	0,126

Die berechneten absorbierten Strahlungsintensitäten waren bei den ETFE und PTFE Reaktionsschleifen vergleichbar. Die Werte bei der Verwendung von Quarzkapillaren waren niedriger und entsprachen ca. 70 % der Werte bei Kunststoffkapillaren. Die Erhöhung des Ausmaß der Umsetzungen in Kapillaren aus ETFE und PTFE im Vergleich

zu Quarz war bemerkenswert, entsprach aber den bisher durchgeführten Arbeiten auf diesem Gebiet (siehe Kapitel 2.1.2.1.).

Zudem waren die Verhältnisse der Strahlungsintensitäten bei verschiedenen Strahlungsquellen vergleichbar, so daß keine Wellenlängenabhängigkeit bezüglich der Durchlässigkeit von Teflon bzw. Tefzel im Vergleich zu Quarz festgestellt werden konnte.

3.2.3.2.4 Einsatz der Kühlung

Die absorbierten Strahlungsintensitäten nahmen beim Einsatz der Kühlung ab.

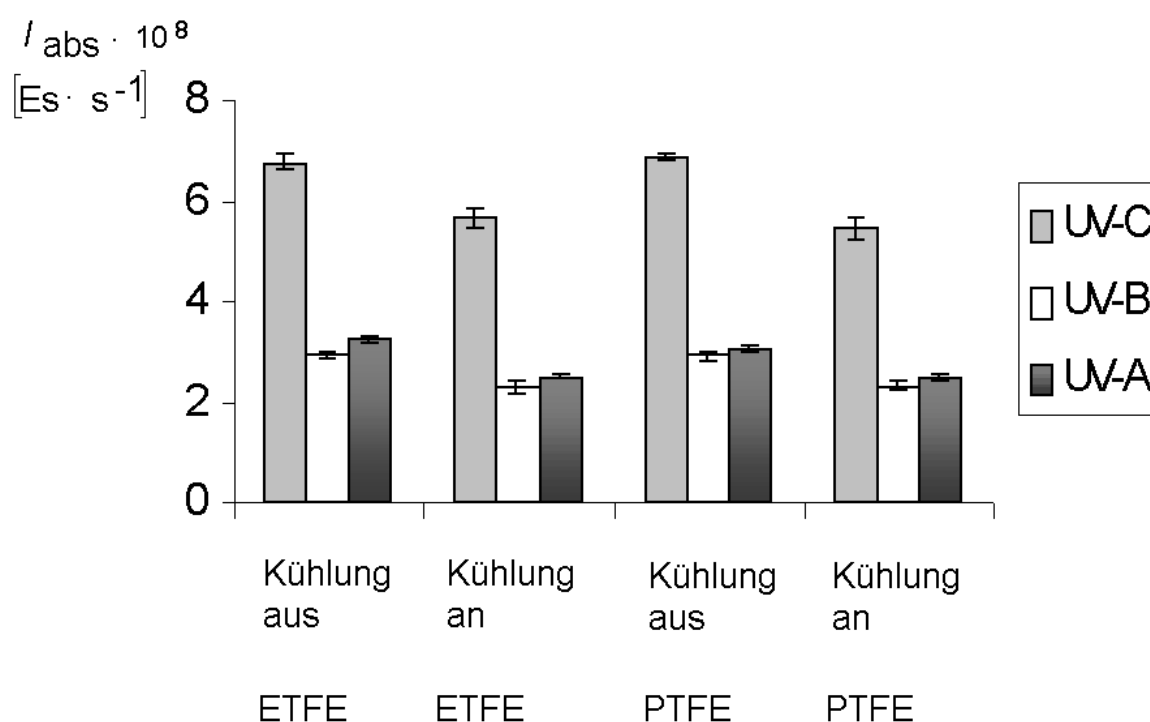


Abbildung 36: Graphische Darstellung der Strahlungsintensitäten ($n = 24$) in Abhängigkeit vom Reaktionsschleifenmaterial, dem Einstrahlungsspektrum und dem Einsatz der Kühlung. Werte siehe Anhang 3.

Da sich die Bestrahlungszeiten durch die Temperatur nicht veränderten, war dieser Effekt nicht auf veränderte Expositionsdauern (z.B. durch eventuelle Verformungen des Materials) zurückzuführen. Weiterhin ist die Quantenausbeute des Aktinometers im Temperaturbereich von 5 - 80 °C konstant [28]. Die Verschmälerung der Signale durch erhöhte Temperaturen führte zu einer Verringerung des bestrahlten Volumens und sollte daher eher zu einer Abnahme der absorbierten Strahlungsintensität führen. Entscheidend war der Einfluß auf den Quecksilberdampfdruck in den Strahlungsquellen. Die Temperatur beeinflusst die relative Ausbeute der Leuchtstoffröhren, wobei die Werte bei 20 °C, in

Abhängigkeit von der Art des Strahlers, ca. 80 % der Ausbeute bei 40 °C entsprechen [105].

Bei vergleichenden Untersuchungen (Kühlung an/aus) ist es auf jeden Fall nötig, den Einfluß auf die Strahlungsausbeute mit zu berücksichtigen.

3.2.3.2.5 Einsatz von Reflexionsmaterialien

Durch den Einsatz von Reflexionsmaterialien konnten die absorbierten Strahlungsintensitäten gesteigert werden. Der Ventilator ermöglichte es, die Temperatur an der Oberfläche des Entladungsrohres konstant zu halten und damit die Reflexion und nicht den Temperatureinfluß zum entscheidenden Faktor zu machen. Durch den Einsatz des selbst konstruierten Reaktors mit Aluminiumröhre ($ID = 10\text{ cm}$) wurden die Ausbeuten um die Faktoren 1,30 - 1,37 gesteigert, während eine schmalere Röhre aus Aluminiumfolie ($ID = 5\text{ cm}$) zu einer Erhöhung der Ausbeute um den Faktor 2,12 - 2,26 führte.

Tabelle 12: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten (Mittelwerte) in Abhängigkeit vom Reflektormaterial - unter Einsatz der Kühlung - nach Bestrahlung in einer ETFE-Reaktionskapillare ($l = 1\text{ m}$); ($n = 6$).

Strahlungs- quelle	schwarzes Papier		Reaktor		Aluminiumfolie	
	I_{abs} $\cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	I_{abs} $\cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	I_{abs} $\cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]
UV-C	4,33	0,105	5,63	0,181	9,40	0,388
UV-B	1,75	0,155	2,29	0,119	3,95	0,345
UV-A	1,82	0,189	2,50	0,047	3,85	0,258

3.2.3.2.6 Art und Form der Reaktionsschleifen

Die absorbierten Strahlungsintensitäten waren in Kapillaren, die um das Trägersystem gewickelt wurden, aufgrund der effektiveren Anordnung höher als in gehäkelten Kapillaren. Zum einen war zu berücksichtigen, daß durch das Häkeln eine Peakverschmälerung eintrat und damit das bestrahlte Volumen geringer wurde. Maßgeblich waren aber auch die Schichtdicke und der Abstand zur Strahlungsquelle, der nur für das Trägersystem eindeutig war, für gehäkelte Kapillaren aber nicht exakt bestimmbar ($0\text{ cm} \leq d \leq 1\text{ cm}$).

Tabelle 13: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Wickelung der Reaktionsschleifen bei einer Flußrate von 0,5 mL/min; (n = 6).

Strahlungs- quelle	gehäkelte Kapillare		gewickelte Kapillare		$I_{\text{abs gewickelt}}/I_{\text{abs gehäkelt}}$
	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv ($I_{\text{abs}} \cdot 10^8$) [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv ($I_{\text{abs}} \cdot 10^8$) [Es/s]	
UV-C	5,58	0,154	7,55	0,214	1,35
UV-B	2,35	0,188	3,25	0,155	1,38
UV-A	2,51	0,147	3,29	0,104	1,31

3.2.3.2.7 Lebensdauer der Strahlungsquelle

Angaben zur Lebensdauer von Licht- und Strahlungsquellen sind bis heute noch nicht einheitlich definiert worden. Der Strahlungsrückfall wird vor allem durch die Belastung (Betriebsstrom) und die Schalthäufigkeit beeinflusst. Bei den UV-C-Strahlern mit einer Nutz-Brenndauer von 100 bzw. 200 h konnten keine Unterschiede festgestellt werden, während der über 1500 h in Betrieb gewesene Strahler einen Abfall der absorbierten Strahlungsintensität auf ca. 80 % aufzeigte.

Tabelle 14: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten (Mittelwerte) in Abhängigkeit von der Brenndauer der Strahlungsquellen (UV-C) unter Einsatz der Kühlung nach Bestrahlung in einer ETFE-Reaktionskapillare ($l = 1$ m); n = 6.

Nutz-Brenndauer: 100 h		Nutz-Brenndauer: 300 h		Nutz-Brenndauer: >1500 h	
$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv ($I_{\text{abs}} \cdot 10^8$) [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv ($I_{\text{abs}} \cdot 10^8$) [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv ($I_{\text{abs}} \cdot 10^8$) [Es/s]
5,35	0,115	5,63	0,181	4,43	0,388

3.2.3.2.8 Art des photochemischen Reaktors

Vergleichende Untersuchungen zwischen dem selbst hergestellten Reaktor und dem zur Verfügung stehenden handelsüblichen Gerät "Beam Boost" waren nur mit dem UV-A und UV-C-Strahler ohne Einsatz des Ventilators möglich (siehe Kapitel 3.1.2.).

Tabelle 15: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten (Mittelwerte) in den beiden photochemischen Reaktoren unter Verwendung verschiedener Strahlungsquellen (UV-C/ UV-A) ohne Kühlung nach Bestrahlung in einer ETFE-Reaktionskapillare ($l = 1 \text{ m}$); ($n = 6$).

Strahlungs- quelle	"Beam Boost"		Photoreaktor		$I_{\text{abs "BeamBoost"}}$ / $I_{\text{abs Photoreaktor}}$
	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	$\text{sdv } (I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	$\text{sdv } (I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	
UV-C	3,63	0,115	6,62	0,201	0,55
UV-A	1,68	0,089	3,15	0,104	0,53

Die absorbierten Strahlungsintensitäten betrugen im käuflich zu erwerbenden Gerät ca. 53 - 55 % der im photochemischen Reaktor gemessenen Intensitäten. Der Strahlungsrückfall soll nach Herstellerangaben durch die Herabsetzung des Betriebsstroms vermindert werden. Da mit der Aktinometrie eine geeignete Methode vorhanden war, die Konstanz von Strahlungsintensitäten zu bestimmen und um höhere Umsätze zu erhalten, wurde der konstruierte Reaktor auf dem höheren Leistungsniveau belassen.

3.2.3.2.9 Vergleich mit der stationären Bestrahlung

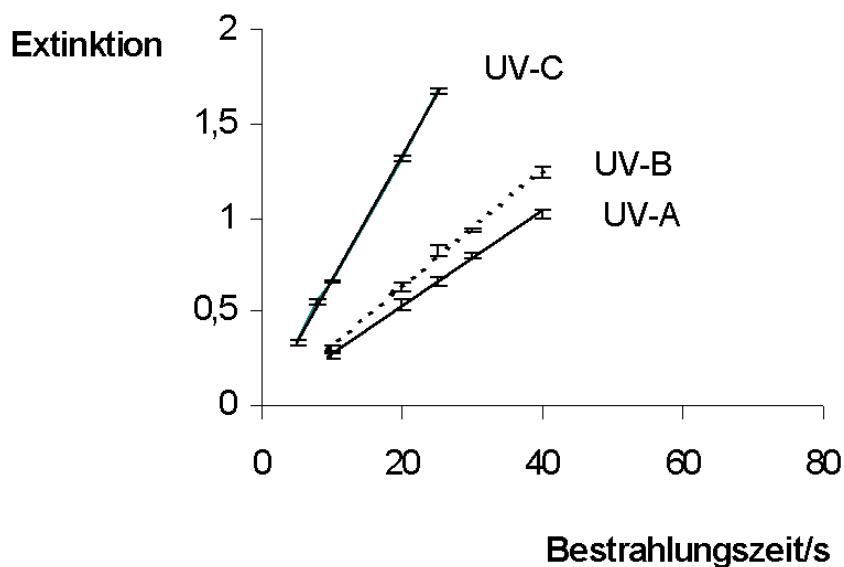
Um die Methode zu prüfen, wurden Bestrahlungen der Aktinometer-Lösung stationär in einer Quarzküvette durchgeführt. Die absorbierten Strahlungsintensitäten bei stationärer Bestrahlung (Eintrittsfläche: 2 cm^2) waren größer als die bei Bestrahlung unter Durchfluß-Bedingungen.

Tabelle 16: Vergleich der berechneten absorbierten Strahlungsintensitäten (UV-C/ UV-B/ UV-A) ohne Kühlung nach Bestrahlung in einer Quarz-Reaktionskapillare ($l = 12 \text{ cm}$); ($n = 6$).

Strahlungs- quelle	stationäre Bestrahlung		Quarz-Kapillare		$I_{\text{abs stationär}}$ / $I_{\text{abs Photoreaktor}}$
	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	$\text{sdv } (I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	$\text{sdv } (I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	
UV-C	9,57	0,223	5,11	0,188	1,88
UV-B	3,75	0,132	2,15	0,258	1,75
UV-A	4,51	0,177	2,48	0,126	1,81

Aufgrund der einheitlichen und größeren Schichtdicke konnte bei der stationären Bestrahlung von einer Totalabsorption ($E_{\lambda} \geq 2$) ausgegangen werden. Die Absorption des

Phenanthrolinkomplexes, graphisch dargestellt in Abbildung 37, sollte in dem Fall proportional zur Bestrahlungszeit sein (Werte: siehe Anhang 5).



Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse (n = 15):

Strahlungs- quelle	Steigung m [1/s]	sdv (m) [1/s]	Achsen- abschnitt b	sdv (b)	Standardfehler des Schätzwertes y ; sdv (y)	Korrelations- koeffizient R^2
UV-C	0,0663	0,00059	0,0002	0,0093	0,0177	0,999
UV-B	0,0254	0,00062	0,0148	0,0167	0,0240	0,992
UV-A	0,0312	0,00068	0,0056	0,0183	0,0264	0,994

Abbildung 37: Graphische Darstellung und Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse der Absorptionen des *o*-Phenanthrolinkomplexes, ermittelt nach Bestrahlung in einer Quarzküvette (Schichtdicke $d = 1$ cm, bestrahltes Volumen $V_{hv} = 2$ mL) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit unter Variation des Einstrahlungsspektrums.

Ein direkter Vergleich erforderte neben der Berücksichtigung der unterschiedlichen Reaktionsordnungen auch den Einbezug der verschiedenen Eintrittsflächen bzw. Volumina. Das bestrahlte Volumen V_{hv} im Durchfluß (20 μ L ohne Dispersion) war im Vergleich zur stationären Bestrahlung (2,0 mL) um den Faktor 100 kleiner. Die Intensitäten pro Volumen waren daher im Durchfluß größer und der Einsatz von Reaktionskapillaren zur Bestrahlung ist in diesem Sinne sehr effektiv. Eine Wellenlängenabhängigkeit bezüglich der Durchlässigkeit der Kapillaren war im Rahmen der Meßgenauigkeit nicht zu verzeichnen.

3.2.3.3 Abschätzung der eingestrahnten Lichtintensität

Um von den absorbierten Strahlungsintensitäten Rückschlüsse auf die insgesamt auftreffenden Photonen ziehen zu können, mußte der Einfluß der Dispersion auf die Reaktionsordnung der photochemischen Reaktion berücksichtigt werden.

3.2.3.3.1 Hoher Konzentrationsbereich

Im Falle einer Reaktion 0. Ordnung ($E_\lambda > 2$), würde im Bereich der Totalabsorption gearbeitet, so daß $I_a = I_0$ angenommen werden könnte. Konzentrationsgradienten sind nur dann von Bedeutung, wenn die Totalabsorption der Probe nicht gewährleistet ist. Ziel war es daher, unter Bedingungen zu arbeiten, die eine Bestimmung bzw. Abschätzung aller auftreffenden Photonen erlaubt.

Bei einem gaussförmigen Peakprofil geht die Konzentration an den Rändern des Bolus aber gegen Null, so daß unter den angewendeten Bedingungen eine Totalabsorption im Gesamtbereich des bestrahlten Volumens nicht möglich war (siehe Kapitel 3.2.3.1.). Durch Verkürzung der Kapillaren ($l = 4,5$ cm) und Unterbrechen der Pumpentätigkeit zum Zeitpunkt des Verweilens der Substanz in der Kapillare konnten die Randbedingungen aber minimiert werden. Die eingesetzte Konzentration der Aktinometerlösung wurde auf 0,2 mol/L erhöht, um eine ausreichend hohe Konzentration in der Kapillare auch nach den Dispersionsprozessen zu erhalten. Das injizierte Volumen ($V_i = 20$ µL) war ca. 10 mal größer als das Volumen der Kapillare ($V = 2,2$ µL ; $ID = 0,247$ mm), so daß näherungsweise ein Auffüllen der Kapillare angenommen wurde.

Die Totalabsorption konnte insofern trotzdem nicht zu 100% gewährleistet werden, weil die Schichtdicken bedingt durch das zylindrische Volumen, zwischen $d_{\min} = 0$ und $d_{\max} = ID$ lag. Ausgehend von der Kreisfunktion $y^2 = r^2 - x^2$, läßt sich die Fläche eines Viertelkreises anhand des folgenden Integrals berechnen:

$$\frac{1}{2} x \sqrt{r^2 - x^2} - \frac{1}{2} r^2 \text{ArcTan} \left(\frac{x \sqrt{r^2 - x^2}}{-r^2 + x^2} \right)$$

Gleichung 28: Integral der Kreisfunktion $y^2 = r^2 - x^2$, berechnet durch Mathematica 3.0 for Microsoft Windows (Copyright 1988-97 Wolfram Research, Inc.)

Bei einem Radius r von 0,127 mm wird bei einem Abstand von $x = 0,120$ vom Kreismittelpunkt bereits 95 % der Fläche erfaßt. Nach Einsetzen in die Kreisfunktion ergibt sich ein Wert für y von 0,041 mm. Bei einer Schichtdicke $d_{95\%}$ ($d_{95\%} = 2 \cdot 0,041$ mm) von 0,082 mm (32% des Innendurchmessers) wird damit bereits 95% der Fläche erfaßt, so daß eine Näherung erfolgen konnte.

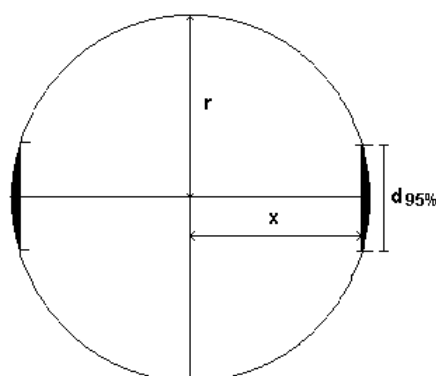


Abbildung 38: Kennzeichnung der Schichtdicke $d_{95\%}$ anhand des Querschnitts durch die Reaktionskapillare

Für die Absorptionen bei 254, 311 und 366 nm (Hauptemissionen der jeweiligen UV-Strahler) ergaben sich demnach folgende Werte:

$$A_{254 \text{ nm}} = \varepsilon_{254 \text{ nm}} \cdot c_d \cdot d_{95\%} = 4890 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 0,0082 \text{ cm} = \mathbf{8,0}$$

$$A_{311 \text{ nm}} = \varepsilon_{311 \text{ nm}} \cdot c_d \cdot d_{95\%} = 2826 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 0,0082 \text{ cm} = \mathbf{4,6}$$

$$A_{366 \text{ nm}} = \varepsilon_{366 \text{ nm}} \cdot c_d \cdot d_{95\%} = 877 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 0,0082 \text{ cm} = \mathbf{1,4}$$

Die Absorptionskoeffizienten wurden hierfür stationär in einer Küvette mit dem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC bestimmt. Unter den gewählten Bedingungen wurde eine Abschätzung der Totalabsorption unter den Bedingungen einer Reaktion 0. Ordnung (für den UV-C und UV-B-Strahler) vorgenommen. Das Auftragen der Absorptionen des o-Phenanthrolinkomplexes ergab in diesem Falle eine Gerade (Abbildung 39).

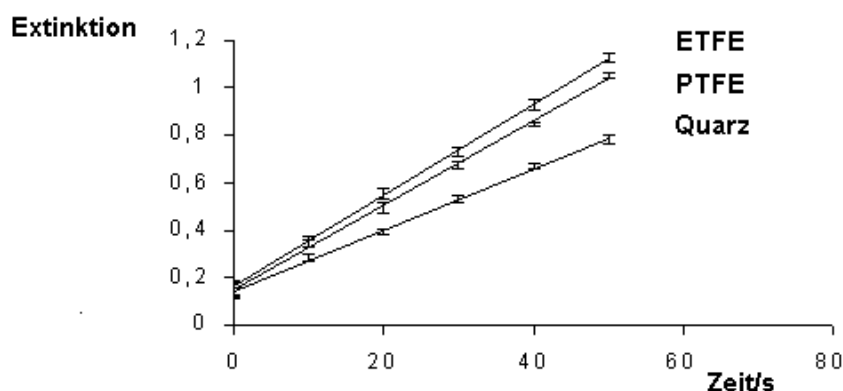


Abbildung 39: Graphische Darstellung (UV-C-Bestrahlung) der Absorption E_λ des o-Phenanthrolinkomplexes ($\lambda = 510 \text{ nm}$) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit.

Werte siehe Anhang 6.

Kapillaren: Quarz, PTFE, ETFE (Länge $l = 4,5 \text{ cm}$, $ID = 0,32 \text{ mm}$ (Quarz), $ID = 0,227 \text{ mm}$ (PTFE), $ID = 0,247 \text{ mm}$ (ETFE)). Kühlung aus; Flußrate 1 mL/min .

Tabelle 17: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse (n = 15):**UV-C**

Material der Kapillare	Kühlung	Steigung der Geraden m [s ⁻¹]	relsdv% (Steigung)	y(x=0)	relsdv% (y(x=0))	Korrelationskoeffizient R ²
ETFE	aus	0,0192	2,22	0,360	3,25	0,992
ETFE	an	0,0165	2,04	0,292	3,05	0,995
PTFE	aus	0,0175	1,95	0,358	3,89	0,991
PTFE	an	0,0152	2,89	0,255	4,28	0,989
Quarz	aus	0,0129	3,55	0,144	3,51	0,996
Quarz	an	0,0112	3,58	0,134	4,58	0,998

UV-B

Material der Kapillare	Kühlung	Steigung der Geraden m [s ⁻¹]	relsdv% (Steigung)	y(x=0)	relsdv% (y(x=0))	Korrelationskoeffizient R ²
ETFE	aus	0,0070	1,55	0,360	2,51	0,995
ETFE	an	0,0060	1,89	0,292	2,89	0,994
PTFE	aus	0,0063	1,28	0,187	2,62	0,997
PTFE	an	0,0054	1,21	0,255	3,15	0,993
Quarz	aus	0,0044	2,14	0,144	4,50	0,994
Quarz	an	0,0042	2,55	0,134	3,01	0,998

Die Achsenabschnitte waren signifikant von Null verschieden, da schon während des Durchfließens der Aktinometer-Lösung eine Bestrahlung erfolgte und in der Graphik die Absorption zur Stopzeit T_{stop} aufgetragen wurde. Das Unterbrechen der Pumpentätigkeit für bestimmte Bestrahlungszeiten führten daher zu einer zusätzlichen Bestrahlung (siehe Gleichung 25, Kapitel 3.2.2.3.3.). Aus den Steigungen der Geraden konnten die absorbierten Strahlungsintensitäten I_{abs} nach Gleichung 27, Kapitel 3.2.3.1. (Steigung $m = E_{\lambda}/T_{\text{hv}}$) berechnet werden. Die Berücksichtigung der Volumina ($V = 1,8 \mu\text{L}$ für PTFE-Kapillaren; $2,2 \mu\text{L}$ für ETFE-Kapillaren und $3,6 \mu\text{L}$ für die Quarzkapillaren) ergab die absorbierten Quantenstromkonzentrationen I_{a} , die in diesem Falle bedingt als eingestrahlt Quantenstromkonzentrationen I_0 aufgefaßt werden konnte.

Tabelle 18: Berechnung der eingestrahnten Quantenstromkonzentrationen anhand der Steigungen der Geraden nach Gleichung 27, Kapitel 3.2.3.1.

Material der Kapillare	Kühlung	UV-C $I_{\text{abs}} \cdot 10^9$ [Es·s ⁻¹]	UV-C $I_{\text{a}} \cdot 10^3$ $\cong I_0 \cdot 10^3$ [Es·s ⁻¹ ·L ⁻¹]	UV-B $I_{\text{abs}} \cdot 10^9$ [Es·s ⁻¹]	UV-B $I_{\text{a}} \cdot 10^3$ $\cong I_0 \cdot 10^3$ [Es·s ⁻¹ ·L ⁻¹]
ETFE	aus	2,86	1,30	1,04	0,47
ETFE	an	2,46	1,12	0,89	0,41
PTFE	aus	2,60	1,45	0,94	0,52
PTFE	an	2,26	1,26	0,80	0,45
Quarz	aus	1,92	0,53	0,65	0,18
Quarz	an	1,67	0,46	0,63	0,17

I_{abs} : absorbierte Strahlungsintensität [Es·s⁻¹]

I_{a} : absorbierte Quantenstromkonzentration [Es·s⁻¹·L⁻¹]

I_0 : eingestrahlte Quantenstromkonzentration [Es·s⁻¹·L⁻¹]

zur Berechnung:

φ : Quantenausbeute (hier: 1,2 nach [96])

m : Steigung $m = E_{\lambda}/T_{\text{hv}}$ (Abbildung 39)

T_{hv} : Bestrahlungszeit [s]

E_{λ} : Absorption des Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm

ε : Absorptionskoeffizient Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm: 11200 L·mol⁻¹·cm⁻¹

V : Volumen des Maßkolbens: 2 mL

d : Schichtdicke: 1 cm

Auch unter diesen Versuchsbedingungen waren die Strahlungsintensitäten bei der Bestrahlung in Quarz-Kapillaren niedriger als in Tefzel- oder Teflon-Kapillaren. Dies war insofern bemerkenswert, als Strahlungsreflexionen in der Kapillare durch die hohe Konzentration der Aktinometer-Lösung minimiert wurden. Reflexionen an den Innenwänden der Kapillaren durch nicht absorbierte Photonen konnten also nicht maßgeblich für die hohen Umsätze in Teflon bzw. Tefzel-Kapillaren verantwortlich sein.

Ein Temperatureffekt war auch entsprechend den vorangegangenen Versuchen zu verzeichnen.

3.2.3.3.2 Niedriger Konzentrationsbereich

Im Falle von Reaktionsbedingungen, unter denen eine Umsetzung abläuft, die durch eine Gleichung 1. Ordnung beschreibbar ist, gilt Gleichung 15 (Kapitel 2.2.4.). Im Gegensatz zu Reaktionen 0. Ordnung mußten zusätzlich die Absorptionskoeffizienten der Aktinometer-Lösung berücksichtigt werden, da nicht alle auftreffenden Photonen absorbiert wurden. Die Konzentration der Aktinometer-Lösung wurde auf 10^{-5} mol/L herabgesetzt. Konzentrationsgradienten waren in diesem Fall von untergeordneter Bedeutung, denn eine dispergierte Probe absorbiert die gleiche Zahl an Photonen, die eine entsprechende nicht dispergierte Probe absorbieren würde (siehe Kapitel 3.2.3.1.). Wegen der niedrigeren Konzentrationen ist in diesem Fall eine direkte Verfolgung der Degradation mittels UV-Detektion im on-line System möglich. Die Abnahme an Ferrioxalat kann direkt spektralphotometrisch durch die Abnahme der Absorption bei $\lambda = 300$ nm verfolgt werden, da die Photoprodukte bei dieser Wellenlänge nicht absorbieren (Werte: siehe Anhang 7).

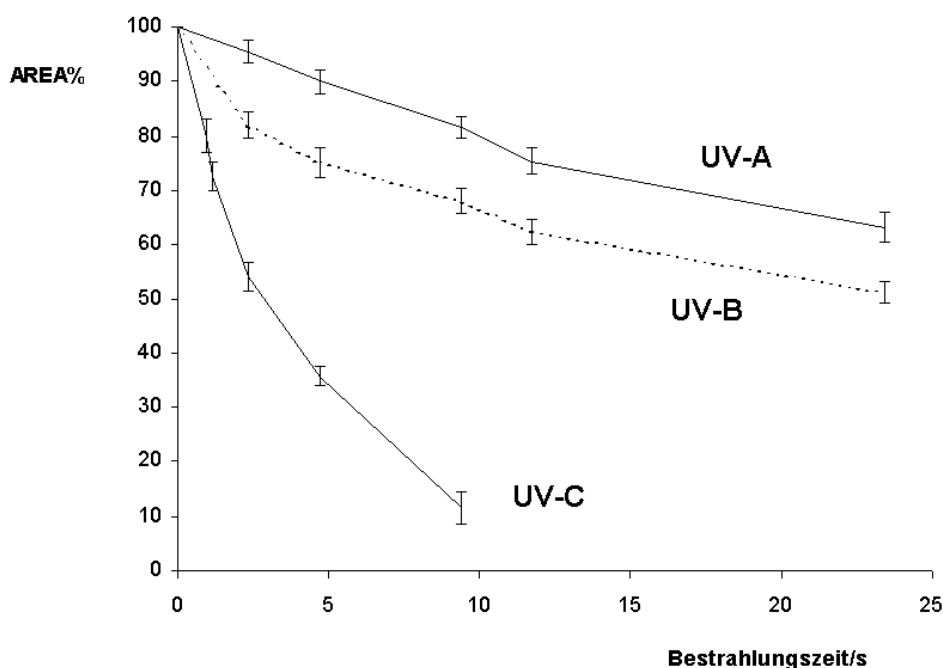


Abbildung 40: Degradation der Ferrioxalat-Lösung ($c = 10^{-5}$ mol/L) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit. Detektionswellenlänge $\lambda = 300$ nm. Kühlung an; ($n = 3$)
 AREA%: Mittelwerte der Flächen dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100

Die eingestrahelte Quantenstromkonzentration I_0 kann nach Gleichung 29 (aus Gleichung 15 und 16) abgeschätzt werden. Die halblogarithmische Auftragung ergab eine Gerade.

$$I_0 = \frac{\ln[A_0] - \ln[A]}{\varphi_A \cdot \chi \cdot d \cdot t}$$

Gleichung 29: φ_A : Quantenausbeute; d : hier d_{mittel} ; χ : natürlicher molarer Absorptionskoeffizient ($\chi = 2,3 \text{ } \epsilon$).

Dabei kann die Geschwindigkeitskonstante k durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$k = \frac{\ln([A_0]/[A])}{t} = \varphi_A \cdot I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$$

Gleichung 30: I_0 : eingestrahlte Quantenstromkonzentration [$\text{Es} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$]; φ_A : Quantenausbeute 1,2; χ = natürlicher molarer Absorptionskoeffizient ($\chi = 2,3 \cdot \epsilon$) [$\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]; d_{mittel} : mittlere Schichtdicke [cm]

Die Durchführung einer Regressionsanalyse ($A = A_0 e^{-kt}$) erlaubt die Bestimmung von k , wobei als Startwerte für die Auswertung mittels des Levenberg-Marquardt-Algorithmus die mittels linearer Regression der logarithmierten Werte erhaltenen Konstanten eingesetzt wurden. Die eingestrahlte Quantenstromkonzentrationen I_0 konnten aus der Geschwindigkeitskonstanten k berechnet werden:

$$I_0 = k \cdot d_{\text{mittel}}^{-1} \cdot \chi^{-1} \cdot \varphi_A^{-1}$$

Gleichung 31

Die Schichtdicke wurde als mittlere Schichtdicke $d_{\text{mittel}} = 0,175 \text{ mm}$ (PTFE $ID = 0,223 \text{ mm}$) und $d_{\text{mittel}} = 0,196 \text{ mm}$ (ETFE $ID = 0,250 \text{ mm}$) angenommen ($d_{\text{mittel}} = ID \cdot \pi/4$). Vorausgesetzt wurde weiterhin, daß die Absorptionen und Quantenausbeuten ($\varphi = 1,2$ nach [96]) der Aktinometer-Lösung über den gesamten Einstrahlungsbereich gleich waren und die Absorptionen denen der Wellenlängen der Hauptemissionen der Strahler entsprechen (Methode 1).

Zunächst wurden die Absorptionskoeffizienten der Aktinometer-Lösungen bei den Wellenlängen ermittelt, die der Hauptemissionslinien der Strahler entsprachen.

UV-C: $\varepsilon_{254} = 4890 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

UV-B: $\varepsilon_{311} = 2826 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

UV-A: $\varepsilon_{366} = 877 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Die Spektralflußverteilungen der Strahler und das Absorptionsspektrum der Aktinometerlösung (siehe Abbildung 41) konnten aber auch durch anteilmäßige Wichtung der einzelnen Wellenlängen (5 nm Abschnitte) berücksichtigt werden (Methode 2).

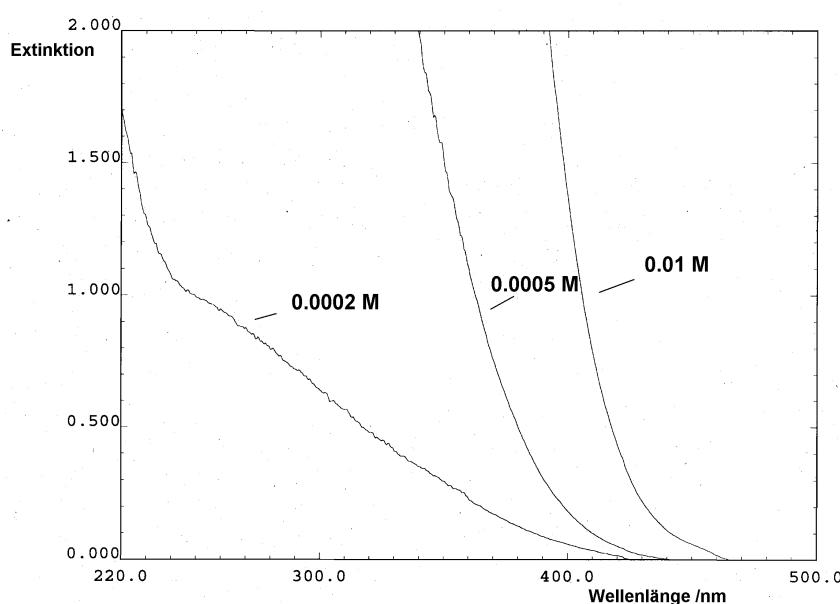


Abbildung 41: UV-Spektren von Ferrioxalat-Aktinometerlösungen verschiedener Konzentrationen ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol/L}$; $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ und $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$)

Die Spektralflußverteilung der Strahler wurde hierfür nach Gleichung 9 (Kapitel 2.2.3.) von Watt nach Es (siehe Anhang 8) umgerechnet und die Einstrahlungsintensitäten in den verschiedenen 5 nm Abschnitten (siehe Anhang 9) berechnet. Da sich die Angaben des Herstellers nur auf 5 nm Abschnitte beziehen, wurde zur Umrechnung die jeweilige mittlere Wellenlänge eingesetzt. Aufgrund der höheren Energie von Photonen niedrigerer Wellenlänge ergab sich eine geringere Wichtung, falls die Spektralflußverteilung auf Teilchen bezogen wurde (Abbildung 42).

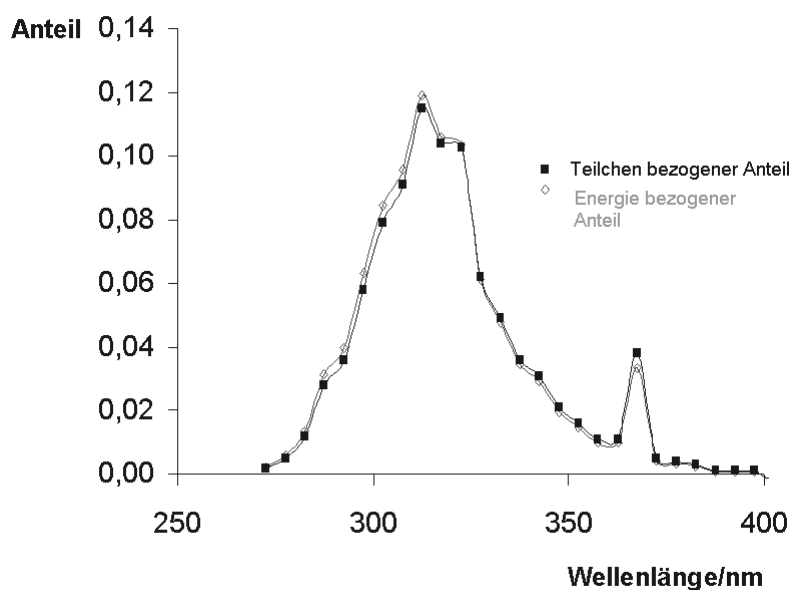


Abbildung 42: Graphische Darstellung der Umrechnung der Spektralflußverteilung des UV-B-Strahlers vom energiebezogenen Anteil (Watt) zum teilchenbezogenen Anteil (Es)

Im Folgenden wurde als Spektralflußverteilung immer der Photonen bezogene Anteil eingesetzt.

Bei der Wichtung wurde daher sowohl die Absorption der Aktinometer-Lösung als auch die Spektralflußverteilung der Strahler berücksichtigt, wobei k im Falle einer Reaktion 1. Ordnung proportional zu I_0 und ε ist (Methode 2, siehe Anhang 9).

Die Ergebnisse der Regressionsanalyse sind in Tabelle 19 zusammengestellt.

Tabelle 19: Ergebnisse der Regressionsanalyse ($A = A_0 \cdot e^{-kt}$) und Abschätzung der Strahlungsintensitäten I_0 (gewichtet und ungewichtet) anhand der Degradation der Aktinometer-Lösung nach einem Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung.

$\varepsilon_{254} = 4890 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; $\varepsilon_{311} = 2826 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; $\varepsilon_{366} = 877 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$; $\varphi = 1,2$

PTFE:

	A_0	sdv (A_0)	k [1/s]	sdv (k) [1/s]	Korrelations- koeffizient R^2	I_0 - Methode 1 [Es/s/L]	I_0 - Methode 2 [Es/s/L] gewichtet
UV-C	98,5	1,97	0,234	0,0127	0,995	$0,99 \cdot 10^3$	$1,21 \cdot 10^3$
UV-B	97,5	2,45	0,050	0,0037	0,985	$0,37 \cdot 10^3$	$0,46 \cdot 10^3$
UV-A	99,2	1,11	0,021	0,0012	0,988	$0,49 \cdot 10^3$	$0,46 \cdot 10^3$

ETFE:

	A_0	sdv (A_0)	k [1/s]	sdv (k) [1/s]	Korrelations- koeffizient R^2	I_0 - Methode 1 [Es/s/L]	I_0 - Methode 2 [Es/s/L] gewichtet
UV-C	98,3	2,30	0,202	0,0125	0,994	$0,76 \cdot 10^3$	$0,93 \cdot 10^3$
UV-B	97,8	1,65	0,052	0,0033	0,995	$0,34 \cdot 10^3$	$0,43 \cdot 10^3$
UV-A	98,9	1,17	0,017	0,0010	0,988	$0,35 \cdot 10^3$	$0,33 \cdot 10^3$

Die berechneten Strahlungsintensitäten I_0 (gewichtet) unterschieden sich z.T. nicht deutlich von den ungewichteten Werten und waren mit den Werten, die unter den Bedingungen einer annähernden Totalabsorption erhalten worden sind, durchaus vergleichbar. Da es sich jeweils nur um eine Abschätzung handelte, waren vergleichende Beurteilungen aber problematisch.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Einstrahlintensitäten auch bei niedrigen Konzentrationen an Aktinometer-Lösung unter der Annahme, daß die Reaktion durch eine Kinetik 1. Ordnung beschrieben werden kann, grob abgeschätzt werden können.

3.2.3.3.3 Vergleich mit Tageslicht

Bei einem Vergleich der Intensität des eingestrahltten Lichtes mit der vom Tageslicht mußten neben den Intensitäten auch die Wellenlängen berücksichtigt werden. Da die Angaben über die Sonnenlichteinstrahlung in Bestrahlungsstärken (Einheit: $W \cdot m^{-2}$ oder $W \cdot cm^{-2}$) oder als Photonenflux (Einheit: $Es \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) angegeben werden, die berechneten Quantenstromkonzentrationen I_0 aber pro Volumen bestimmt wurden (Einheit: $Es \cdot s^{-1} \cdot L^{-1}$), mußte eine Umrechnung erfolgen. Wird als bestrahlte Fläche in der Kapillare das Produkt aus Durchmesser und Länge angenommen, so entspricht 1 cm^2 einer Kapillarlänge von 39,4 cm (bei einem Innendurchmesser $ID = 0,254$) und damit einem Volumen von ca. 20 μL . Der erhaltene Photonenflux (umgerechnet von 20 μL auf 1 L) wurde mit dem Standard-Sonnenspektrum [106] (bestrahlte Fläche: 1 cm^2) verglichen. Bisher sind eine Reihe von gemessenen Sonnenspektren, die unterschiedliche Breitengrade, Höhen sowie Schwankungen aufgrund des Jahres, der Jahreszeit und der Tageszeit berücksichtigen, veröffentlicht worden [107]. Das verwendete Referenzspektrum wurde von der europäischen Arbeitsgruppe "Sun Protection Measurement" der COLIPA (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association) als Standardsonne ausgewählt und stellt

das Spektrum eines wolkenlosen Himmels bei hohem Sonnenstand und verhältnismäßig niedriger Höhe über dem Meeresspiegel dar. Die Einheit der Bestrahlungsstärke wird durch $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$ angegeben, daher war zunächst eine Umrechnung in $\text{Es}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ erforderlich (siehe Anhang 10).

Die nahezu monochromatische Linienemission des UV-C-Strahlers erlaubte eine direkte Umrechnung auf die 20 μL pro Wellenlänge. Die ermittelte Strahlungsintensität I_0 (siehe Tabelle 19, Kapitel 3.2.3.3.2.) wurde anteilmäßig auf die entsprechenden Wellenlängen verteilt.

Tabelle 20: Berechnung der Strahlungsintensität $I_{20\mu\text{L}}$ und Verteilung anhand der prozentualen spektralen Emission

$$I_{20\mu\text{L}} = I_0 \cdot V = 9,3 \cdot 10^{-4} \text{ Es}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{L}^{-1} \cdot 20 \mu\text{L} = 1,86 \cdot 10^{-8} \text{ Es}\cdot\text{s}^{-1}$$

(I_0 : Einstrahlungsintensität in einer ETFE Kapillare, gewichteter Wert; siehe Tabelle 19)

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission	$I_{20\mu\text{L}}$ [Es·s ⁻¹]
254	0,809	$1,38 \cdot 10^{-8}$
311	0,132	$2,25 \cdot 10^{-9}$
366	0,060	$1,02 \cdot 10^{-9}$
405	0,090	$1,53 \cdot 10^{-8}$
Summe	1,000	$1,86 \cdot 10^{-8}$

Wegen der Absorption durch die Ozonschicht ist die Intensität der Strahlung mit Wellenlängen unterhalb von 290 nm auf der Erde gering. Daher sind die UV-C-Strahler bei Simulationsexperimenten für photochemische Stabilitätsuntersuchungen nicht unbedingt zweckmäßig. Sie können jedoch als "Stress-Test" in photochemischen Untersuchungen angewendet werden [108].

Die polychromatische Emission der UV-B- und UV-A-Strahler erforderte die Verteilung auf den entsprechenden Wellenlängenbereich durch Umrechnung in 5 nm Schritten. Die berechneten Werte gaben die gesamte Strahlungsintensität innerhalb eines 5 nm Bereiches an (siehe Anhang 11). Das Standardsonnenspektrum bezieht sich jedoch auf die Angaben für die Strahlungsintensität pro einzelner Wellenlänge. Daraus folgt, daß die Werte aus Anhang 11 für die vergleichende graphische Darstellung durch 5 geteilt werden mußten.

$$\text{UV-B: } I_{20\mu\text{L}} = I_0 \cdot V = 4,3 \cdot 10^{-4} \text{ Es} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 20 \mu\text{L} = 8,6 \cdot 10^{-9} \text{ Es} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\text{UV-A: } I_{20\mu\text{L}} = I_0 \cdot V = 3,3 \cdot 10^{-4} \text{ Es} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 20 \mu\text{L} = 6,6 \cdot 10^{-9} \text{ Es} \cdot \text{s}^{-1}$$

(I_0 : Einstrahlintensität in einer ETFE Kapillare, gewichteter Wert; siehe Tabelle 19)

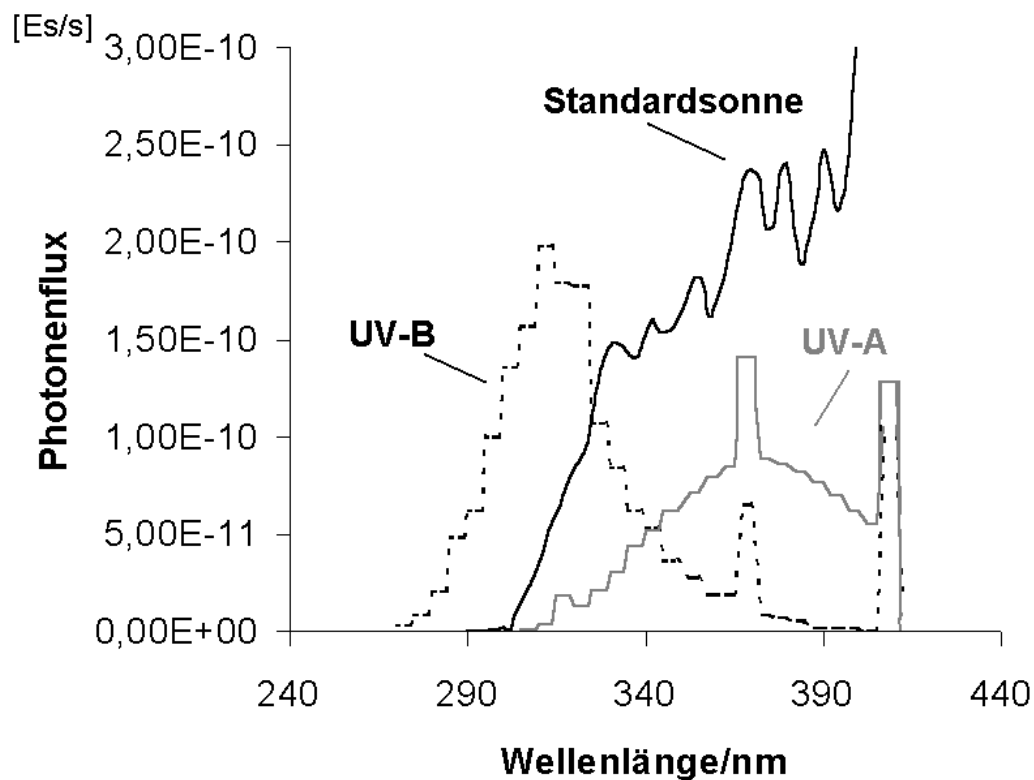


Abbildung 43: Darstellung der Einstrahlintensitäten der Standardsonne (Angaben bis 400 nm) und des UV-B und UV-A-Strahlers, bezogen auf die Intensität I pro cm^2 bzw. $20 \mu\text{L}$.

Unter den vorgegebenen Versuchsbedingungen war der Anteil an UV-B-Strahlung, der die Probe erreicht höher als durch die Standardsonne vorgegeben war, wohingegen der UV-A-Strahler zu einer geringeren Exposition führte. Um Aussagen über die photochemische Stabilität von Substanzen zu treffen, sollten diese Spektren berücksichtigt werden.

3.3 Bestrahlung vor der chromatographischen Trennung: Untersuchungen zur Photostabilität

3.3.1 Methode

3.3.1.1 Fließinjektionsanalyse

Die Integration des Photoreaktors in ein FIA-System mit anschließender photometrischer und amperometrischer Detektion ermöglichte es, erste Aussagen über eventuelle Veränderungen von UV-Filtern durch UV-Strahlung (UV-C, UV-B, UV-A) zu treffen.

Nach der Bestrahlung erfolgte im direkten Anschluß die UVD, gefolgt von der ECD. Die Auswertung erfolgte über die Peakflächen ($n = 6$), signifikante Unterschiede wurden mittels t -Test ($P = 0,95$; Freiheitsgrad $f = 10$) überprüft. Die Versuchsdurchführung ist in Kapitel 4.4.2. beschrieben. Da die Peakhöhen aufgrund von Dispersionsprozessen von der Temperatur abhängig waren (vgl. Kapitel 3.2.2.3.4.), wurde die Auswertung über die Flächen durchgeführt. Durch den Einsatz des Ventilators konnte dieser Effekt aber minimiert werden. Dies zeigte sich beispielsweise bei der Bestrahlung von Sulisobenzonum. Nach Bestrahlung ohne Kühlung erhöhten sich die Peakhöhen signifikant, während sich die Flächen nicht veränderten. Wurde das System hingegen gekühlt, waren die Peakhöhen vergleichbar. Die markierten Prozentzahlen (Tabelle 21) stellen die signifikanten Unterschiede dar, so daß bei der Auswertung über die Peakhöhe vermeintlich eine Veränderung stattgefunden hat.

Tabelle 21: Sulisobenzonum: Screening im FIA-System: Verhältnis (prozentual) der Mittelwerte der Peakhöhen bzw. -flächen ($n = 6$) mit und ohne Bestrahlung in Abhängigkeit vom Einstrahlungsspektrum, dem Einsatz der Kühlung und der Bestrahlungszeit. Signifikante Veränderungen: **Fett** gedruckt.

Strahler	Zeit des Stoppens T_{stop} [s]	UVD KÜHLUNG AUS Fläche %	UVD KÜHLUNG AUS Höhe %	UVD KÜHLUNG AN Höhe %	ECD KÜHLUNG AUS Höhe %	ECD KÜHLUNG AN Höhe %
UV-C	0	100,4	104,8	100,2	105,8	101,6
	40	100,9	105,7	101,1	106,4	102,6
	80	100,7	103,6	100,7	102,5	103,4
	120	101,0	105,0	101,0	109,0	99,5
	160	100,3	106,3	99,5	108,3	99,3
UV-B	0	100,0	104,2	102,1	110,1	102,0
	40	99,8	106,2	98,5	108,2	104,5
	80	99,9	105,1	100,6	115,1	98,5
	120	100,5	104,6	98,5	109,2	97,6
	160	100,7	106,2	100,1	107,2	103,2
UV-A	0	98,8	103,8	99,7	105,9	99,6
	40	101,5	107,8	100,1	104,5	100,5
	80	100,4	103,3	99,8	109,1	99,5
	120	99,2	104,1	99,4	103,2	98,2
	160	98,9	104,5	102,3	106,5	97,5

Diese Ergebnisse bestätigten die Annahme, daß die Peaks durch erhöhte Temperaturen schmaler wurden.

Die Peakflächen bei UVD zu Beginn und am Ende der Versuchsreihen, bei abgeschalteter Strahlungsquelle, unterschieden sich bei allen UV-Filtern nicht signifikant. Damit wurde der Ausgangswert überprüft. Veränderungen im Detektionsverhalten waren daher nicht auf Veränderungen in der Lösung während der Versuchsdauer zurückzuführen.

Durch die UVD konnten Veränderungen im Absorptionsverhalten erkannt werden. Da für die Anwendung als UV-Filter ein ausreichendes Absorptionsvermögen notwendig ist, konnten damit auch erste Hinweise auf Wirksamkeitsverluste gewonnen werden. Die Detektion erfolgte bei zwei Wellenlängen, wobei eine die Wellenlänge des Absorptionsmaximums darstellte. Daher wurden zunächst die UV-Spektren der UV-Filter

im relevanten Fließmittel aufgenommen, wobei durch den Einsatz eines Thermostaten mögliche Temperatureffekte auf die Absorption verfolgt werden konnten.

Tabelle 22: Detektions-Wellenlängen der UVD mit Absorptionskoeffizienten (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

Chemischer Lichtschutzfilter	Wellenlänge λ_{\max} [nm] (Absorptionskoeffizient ϵ [mol ⁻¹ · L · cm ⁻¹])	Wellenlänge λ [nm] (Absorptionskoeffizient ϵ [mol ⁻¹ · L · cm ⁻¹])
4-Aminobenzoessäure	270 (970)	254 (660)
4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester	306 (960)	280 (450)
1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion	360 (1020)	285 (360)
2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure-2-ethyl-hexylester	305 (950)	254 (390)
2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon (Oxybenzonum)	328 (410)	288 (640)
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure (Sulisobenzonum)	323 (320)	287 (470)
3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on	305 (810)	280 (400)
4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester	309 (780)	240 (330)
2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure	305 (1010)	254 (250)
3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat	304 (230)	280 (80)

Bei einem Potential von +1,2 V elektrochemisch detektierbare UV-Filter waren 4-Aminobenzoessäure, 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure, 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat und 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure. Damit stand für diese UV-Filter eine zusätzliche Detektionsmethode zur Verfügung. Für nicht detektierbare Verbindungen wurde die Möglichkeit eröffnet, eventuelle Photoprodukte, die amperometrisch oxidierbar waren (z.B. Phenole oder aromatische Amine) mit hoher Empfindlichkeit nachzuweisen. Da Aufgabemassen von 20 - 100 pg theoretisch

detektierbar sein sollten [109], konnten eventuelle amperometrisch oxidierbare Photoprodukte auf 0,2 % begrenzt werden (Annahme: Nachweisgrenze 100 pg).

Nach dem Grundgesetz von Grotthus und Draper ist nur das von einem Stoff absorbierte Licht photochemisch wirksam. Alle chemischen Lichtschutzfilter absorbieren UV-C- und UV-B-Strahlung, während UV-A-Strahlung nur von einem geringeren Anteil der UV-Filter absorbiert wird. Je nach Absorptionsspektrum des UV-Filters erlaubt der Einsatz des UV-A-Strahlers daher Aussagen über mögliche andere Effekte. Bei 4-Aminobenzoessäure, ein UV-B-Filter, waren z.B. keine Veränderungen der Peakflächen nach UV-A-Bestrahlung sowohl mit als auch ohne Einsatz des Ventilators erkennbar. Somit konnten unter den angegebenen Versuchsbedingungen Einflüsse durch Wärme oder systembedingte Veränderungen (z.B. Adsorptionseffekte an den Reaktionskapillaren) von der photochemischen Degradation abgegrenzt werden.

3.3.1.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Im HPLC-System konnte nach der Bestrahlung die Chromatographie erfolgen, so daß die Detektion eventueller Photoprodukte möglich war. Durch eine Veränderung des Fließmittels konnten die Versuchsbedingungen während der Bestrahlung verändert werden. Zu berücksichtigen war aber, daß sich damit zugleich eine Veränderung der mobilen Phase ergab und damit andere chromatographische Bedingungen.

Als Auswahlkriterien für das Fließ- bzw. Lösungsmittel dienten:

☐ Löslichkeit des UV-Filters

PABA, PEG-PABA, Sulisobenzonum und 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure waren wasserlöslich. Für die anderen UV-Filter waren aufgrund der Unlöslichkeit in Wasser z.T. höhere Anteile an Methanol oder Acetonitril erforderlich (siehe Kapitel 4.4.3., Tabelle 41).

☐ pH-Wert

Bei Säuren und Basen kann der pH-Wert die Detektionseigenschaften, die photochemische Reaktion (durch Veränderung des Absorptionsspektrums der Ausgangsverbindung oder durch pH-abhängige Reaktionen) und bei der HPLC auch die chromatographischen Eigenschaften beeinflussen. Für das durchgeführte Screening wurde der pH-Wert 5,5 ausgewählt (pH-Wert des Säureschutzmantels der Haut). Bei den chromatographischen Untersuchungen wurde der pH-Wert als Parameter z.T. variiert (siehe Kapitel 4.4.3.).

□ Photostabilität des Solvens

Als Kriterien dienten zunächst die erhaltenen UV-Spektren des Lösungsmittels, wobei eine Absorption im relevanten Wellenlängenbereich (> 254 nm) nicht auftrat. Bei der Bestrahlung des Fließmittels waren bei Einsatz der Kühlung keine Veränderungen sowohl mit UVD als auch mit ECD zu bemerken.

□ Eignung für die ECD

Die amperometrische Detektion erforderte den Einsatz eines Leitsalzes, wobei Perchlorsäure, Essigsäure/ Natriumacetat und Natriumdihydrogenphosphat/ Natriummonohydrogenphosphat eingesetzt wurden.

□ Chromatographische Trenneigenschaften

Für den jeweiligen UV-Filter wurde die Zusammensetzung des Fließmittels so gewählt, daß möglichst optimale chromatographische Bedingungen (bei Verwendung einer RP-18 Trennsäule) vorlagen. Kriterien waren hierfür ua.: Linearität des Detektorsignals zur Konzentration, Retentionszeit der Ausgangsverbindung und Retentionszeiten eventuell auftretender Photoprodukte, soweit bekannt. Durch den Einsatz verschiedener Detektoren (UVD, ECD, Fluoreszenz) konnten Hinweise auf Peakreinheit sowohl vor als auch nach der Bestrahlung, gewonnen werden, wodurch die Selektivität bezüglich der Ausgangsverbindung erhöht werden konnte.

Die Variation des Einstrahlungsspektrums durch den Einsatz der verschiedenen Strahlungsquellen ermöglichte es, Aussagen über eine Wellenlängenabhängigkeit der Umsätze zu treffen, wobei die Strahlungsintensität zusätzlich zu berücksichtigen war. Veränderungen im Absorptionsspektrum oder die Bildung von Photoprodukten durch den UV-C-Strahler mußten kritisch betrachtet werden, da dieser Wellenlängenbereich für die Anwendung als UV-Filter nicht relevant ist. Eine Bestrahlung mit dem UV-B-Strahler war zweckmäßiger, die Strahlungsintensität war aber höher als die Werte der Standardsonne; eine Bestrahlungszeit von 2 h wurde daher als mehr als ausreichend angesehen. Die UV-A-Bestrahlung erfolgte bis zu 4 h lang, da die Emission zwar im geeigneten Wellenlängenbereich lag, aber die Intensität relativ gering war (vgl. Kapitel 3.2.3.3.3.).

Bei den HPLC-Untersuchungen wurden auch vergleichende Untersuchungen mit und ohne Einsatz des Ventilators durchgeführt, wobei sich auch hier die Peakerhöhung durch erhöhte Temperatur zeigte.

Im Folgenden werden die Ergebnisse des Screenings im FIA-System und die Ergebnisse der HPLC-Untersuchungen für den jeweiligen UV-Filter dargestellt.

3.3.2 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester

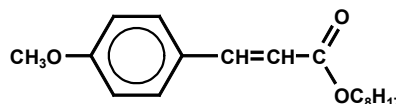
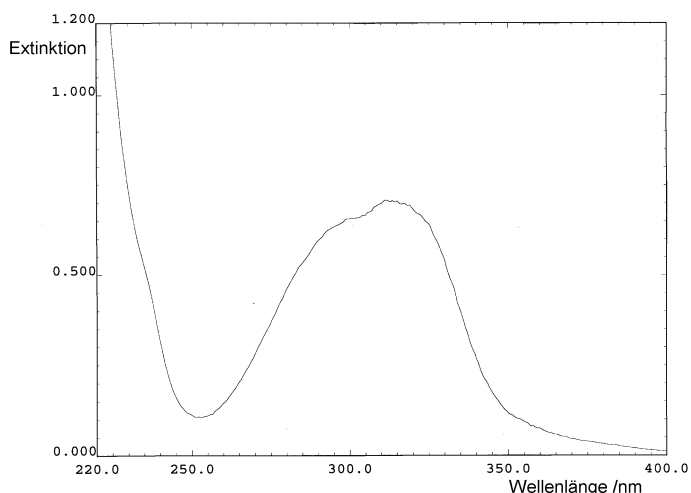


Abbildung 44: UV-Spektrum von 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester; $c = 0,1 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Methanol/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester wies ein Absorptionsmaximum bei 309 nm auf und absorbiert vor allem im UV-B-Bereich. Die Absorptionseigenschaften waren unabhängig vom pH-Wert oder der Temperatur.

3.3.2.1 Fließinjektionsanalyse

Untersuchungen im FIA-System zeigten veränderte Absorptionseigenschaften nach Bestrahlung mit UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahlung. Die Signale, gemessen mit der UVD, nahmen sowohl im Absorptionsmaximum bei 309 nm als auch bei 240 nm ab.

Eine Variation der Bestrahlungszeit (50 - 170 s), dargestellt in Abbildung 45, führte hingegen nicht zu signifikant verschiedenen Peakflächen. Die Flächen% blieben konstant, waren aber von der eingestrahlten Wellenlänge abhängig. Der Einfluß des Einstrahlungsspektrums wurde vor allem bei der Detektion im Maximum deutlich. Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler führte zu einer Abnahme auf ca. 80 %, mit dem UV-A-Strahler auf ca. 70 % und dem UV-B-Strahler auf ca. 65 % der Ausgangspeakfläche.

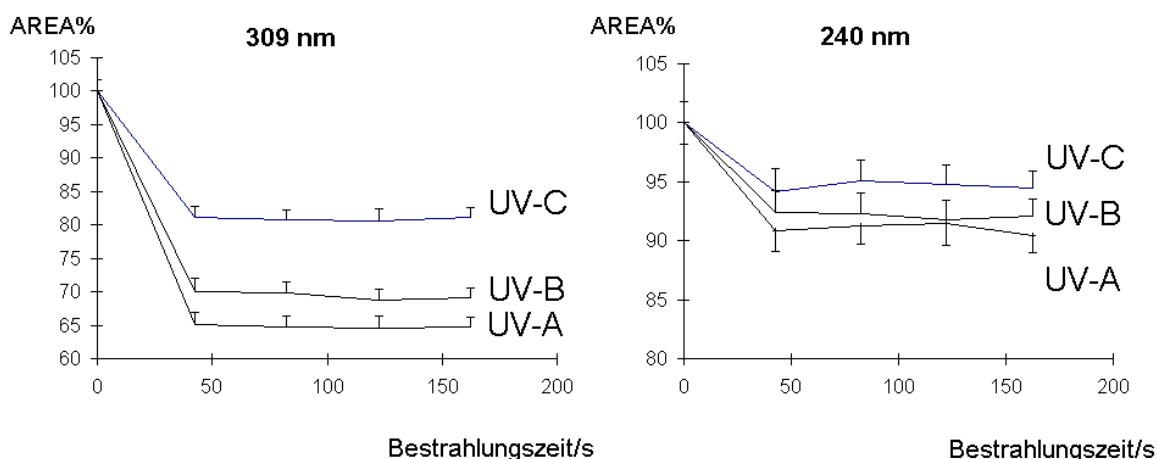


Abbildung 45: 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester:

Graphische Darstellung der Flächen% der UVD bei den Detektionswellenlängen 309 nm und 240 nm in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit.

Flächen%: Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100.

Die Fehlerindikatoren beruhen auf der Standardabweichung der bestimmten Flächen.

Bei der Abnahme der Absorption bei 309 nm war die Bildung des entsprechenden Z-Isomers zu diskutieren, welches einen geringeren molaren Absorptionskoeffizienten besitzt [78]. Die Konstanz der Peakflächen bei Änderung der Expositionszeit lieferte dabei einen Hinweis auf die Bildung eines photostationären Gleichgewichtszustands. Weitere Hinweise sollten dabei die Ergebnisse der HPLC liefern, was im folgenden Kapitel näher dargestellt wird.

Mittels der amperometrischen Detektion waren auch nach Bestrahlung keine Signale zu erhalten. Eine denkbare photolytische Etherspaltung mit der Bildung der entsprechenden elektrochemisch oxidierbaren phenolischen Verbindung war unter den Versuchsbedingungen daher nicht zu erfassen.

3.3.2.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Durch die Schaltung des photochemischen Reaktors in ein HPLC-UVD-System mit Bestrahlung vor der Trennsäule konnte ein photochemisches Degradationsprodukt detektiert werden. Die Injektion einer frisch hergestellten Lösung von *E*-4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester führte zu einem Peak (Retentionszeit $t_r = 8,2$ min, Peak 1). Nach Bestrahlung nahm bei allen eingesetzten Strahlern die Peakhöhe des *E*-Isomers ab und ein zweiter Peak (Retentionszeit $t_r = 7,5$ min, Peak 2) wurde detektiert, vgl. Abbildung 46. Die Chromatogramme veränderten sich ebenfalls bei längeren Bestrahlungszeiten (bis zu 2 h bei UV-B- und UV-C-Bestrahlung, bis zu 4 h bei UV-A-Bestrahlung) nicht.

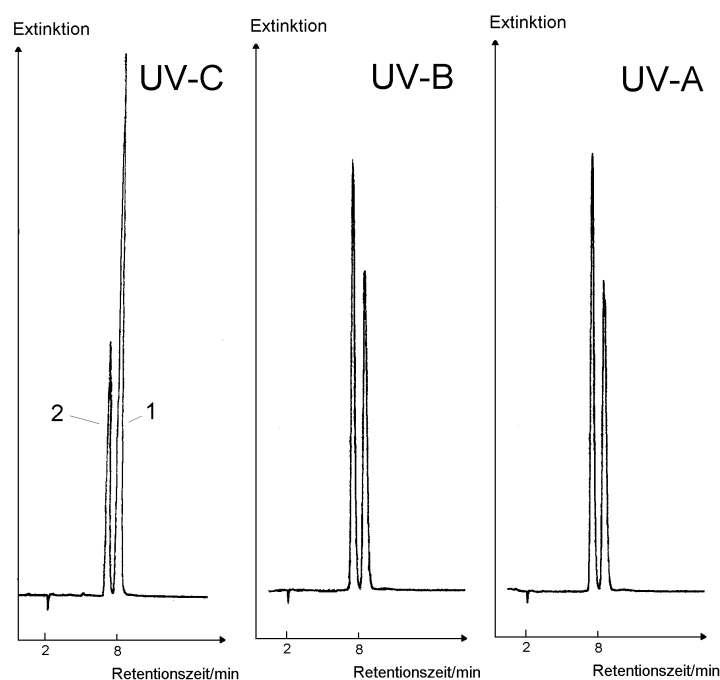


Abbildung 46: Chromatogramme einer bestrahlten Lösung (30 s) von *E*-4-Methoxyzimtsäure-2-ethyl-hexylester (Detektionswellenlänge $\lambda = 309$ nm)

Die Abnahme der Höhe des Peaks des *E*-Isomers war bei der Bestrahlung mit längerwelligem Licht ausgeprägter als bei kurzwelligem. Die Peakhöhe (Peak 1) in % wurde bei 309 nm und 254 nm, mit und ohne Kühlung, verfolgt (Tabelle 23). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den verschiedenen Detektionswellenlängen, was ein Hinweis auf Peakreinheit ist.

Tabelle 23: Peakhöhe des *E*-Isomers (Peak 1) in % ermittelt bei zwei Detektionswellenlängen (254 nm und 309 nm)

Höhen%: Mittelwerte der Höhen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Höhen bei $T_{\text{hv}} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100

Einstrahlungsspektrum	Bestrahlungszeit: 30 s		Bestrahlungszeit: 10 min		Bestrahlungszeit: 40 min		Bestrahlungszeit: 120 min	
	254 nm	309 nm	254 nm	309 nm	254 nm	309 nm	254 nm	309 nm
UV-C	54,3	53,7	53,2	53,8	51,3	52,5	51,2	52,8
UV-B	33,1	34,9	32,7	33,2	31,2	34,7	33,5	33,6
UV-A	30,0	31,5	30,5	31,0	29,8	29,2	30,1	29,1
Hochdruckstrahler	34,5	33,2	31,8	32,5	33,7	32,2	33,2	31,5

Der Einsatz der Kühlung hatte keinen Einfluß auf die erhaltenen Signale bei allen eingesetzten Strahlern und Bestrahlungszeiten. Eine Erwärmung (bis 70 °C) der Kapillare bewirkte keine Abnahme der Signale der *E*-Form, so daß die Umsetzung nicht auf

Temperatureffekte zurückzuführen sind. Eine Erhöhung der Strahlungsintensität durch Abschalten der Kühlung war nicht entscheidend für die Zusammensetzung des Gemisches.

Durch den Einsatz eines Dioden-Array-Detektors wurden die jeweiligen UV-Spektren ermittelt. Angenommen wurde, daß der Peak 2 das entsprechende *Z*-Isomer darstellt, da dieses das aus der Literatur bekannte relevante Photoprodukt ist (vgl. Kapitel 2.3.2.3.). Die Spektren wurden nach einer UV-C-Bestrahlung mit einer Degradation des *E*-Isomers von 53 % aufgenommen worden, so daß unter der Annahme, daß keine weiteren Photoprodukte entstanden sind, 47 % des *Z*-Isomers vorhanden waren. Die Verhältnisse der Absorptionen im UV-Spektrum bei 311 nm (UV-B) und 254 nm (UV-C) zeigen, daß das *E*-Isomer im langwelligeren UV-B Bereich stärker absorbiert als das mutmaßliche *Z*-Isomer. Eine Verschiebung des Gleichgewichts ist daher im langwelligeren Bereich ausgeprägter (siehe Abbildung 45 und 46).

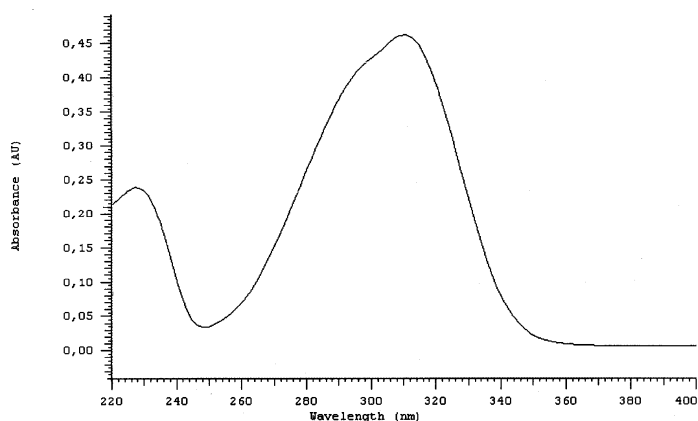


Abbildung 47: UV-Spektrum des *E*-4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylesters (Peak 1), aufgenommen nach Bestrahlung mit UV-C-Strahlung mittels Dioden-Array-Detektor (Bestrahlungszeit: 10 min)

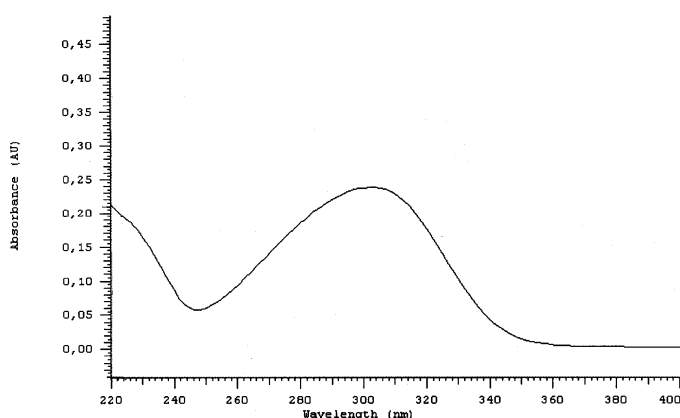


Abbildung 48: UV-Spektrum des *Z*-4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylesters (Peak 2), aufgenommen nach Bestrahlung des *E*-Isomers mit UV-C-Strahlung mittels Dioden-Array-Detektor (Bestrahlungszeit: 10 min)

Ein Vergleich der UV-Spektren mit aus der Literatur bekannten Spektren [78] diene als weiteres Identitätskriterium der Isomere. Die Bildung der entsprechenden Dimere ist bisher nur nach Bestrahlung der Festsubstanz [82] oder höher konzentrierter Lösungen [54] beschrieben worden; diese konnten unter den angegebenen Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden.

Die Verhältnisse der Absorptionskoeffizienten konnten durch die anteilmäßige Zusammensetzung des Gemisches, ermittelt mit HPLC-UVD nach Bestrahlung, und der Veränderung der Gesamtabsorption, ermittelt im FIA-UVD-System, berechnet werden, wobei:

$$A_{\lambda}/A_{\lambda 0} = [\varepsilon_{\lambda e} \cdot x_e + \varepsilon_{\lambda z} \cdot (1 - x_e)] / \varepsilon_{\lambda e}$$

Gleichung 32: A_{λ} : Absorption des Gemisches nach Bestrahlung; $A_{\lambda 0}$: Absorption des Gemisches ohne Bestrahlung; $\varepsilon_{\lambda e}$: molarer Absorptionskoeffizient des *E*-Isomers [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$], $\varepsilon_{\lambda z}$: molarer Absorptionskoeffizient des *Z*-Isomers [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$], x_e : Anteil des *E*-Isomers nach Bestrahlung

$A_{\lambda}/A_{\lambda 0}$ wurde aus den Ergebnissen der FIA mittels der Peakflächen der UVD vor und nach Bestrahlung ermittelt (siehe Abbildung 45).

Für die Verhältnisse im Absorptionsmaximum bei 309 nm konnten folgende Gleichungen aufgestellt werden:

$$\text{UV-C:} \quad 0,80 = (\varepsilon_{\lambda e} \cdot 0,53 + \varepsilon_{\lambda z} \cdot 0,47) / \varepsilon_{\lambda e}$$

$$\text{UV-B:} \quad 0,70 = (\varepsilon_{\lambda e} \cdot 0,33 + \varepsilon_{\lambda z} \cdot 0,67) / \varepsilon_{\lambda e}$$

$$\text{UV-A:} \quad 0,65 = (\varepsilon_{\lambda e} \cdot 0,30 + \varepsilon_{\lambda z} \cdot 0,70) / \varepsilon_{\lambda e}$$

Für das Verhältnis der Absorptionskoeffizienten ($\varepsilon_{\lambda z} / \varepsilon_{\lambda e}$) bei 309 nm wurde 0,54 als Mittelwert berechnet. Der Zusammensetzung des Gemisches kommt damit eine entscheidende Bedeutung bezüglich der Filterleistung zu. Eine Zunahme des *Z*-Isomers führt zu einer Abschwächung der UV-B-filternden Eigenschaften des 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylesters.

Die Photostabilität des *E*-Isomers ist als gering einzustufen, da hier eine Umsetzung schon nach 40 s durch alle eingesetzten Strahlungsquellen erfolgte. Bezieht man sich dagegen auf das nach Bestrahlung entstandene Isomeren-Gemisch, dann waren weitere photochemische Umsetzungen auch nach 120 min (bzw. 4 h für den UV-A-Strahler) nicht zu verzeichnen.

3.3.3 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on

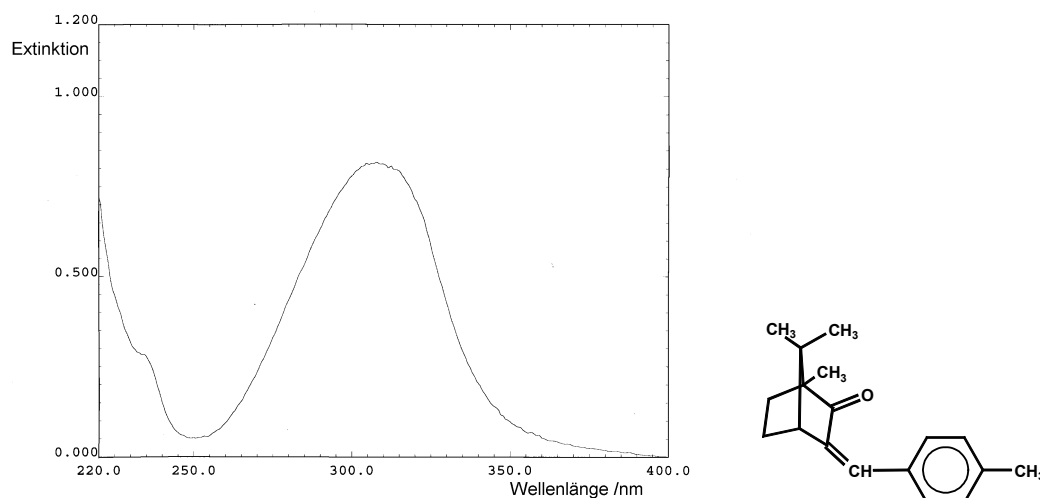


Abbildung 49: UV-Spektrum von 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on; $c = 0,1 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Methanol/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on wies ein Absorptionsmaximum bei 305 nm auf. Die Absorptionseigenschaften waren ebenfalls unabhängig vom pH -Wert oder der Temperatur.

3.3.3.1 Fließinjektionsanalyse

Nach Bestrahlung nehmen die Flächen der Signale der UVD auch bei diesem UV-Filter ab (Abbildung 50). Mit zunehmender Bestrahlungszeit sanken die Peakflächen aber weiterhin ab (UV-B-Strahler und UV-C-Strahler). Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler führt zu einer Abnahme der Absorption im Maximum auf 84 - 87 %, mit dem UV-A-Strahler auf 88 - 89 % und dem UV-B-Strahler auf 80 - 84 % der Ausgangspeakfläche.

Mittels der amperometrischen Detektion waren auch nach Bestrahlung keine Signale zu erhalten.

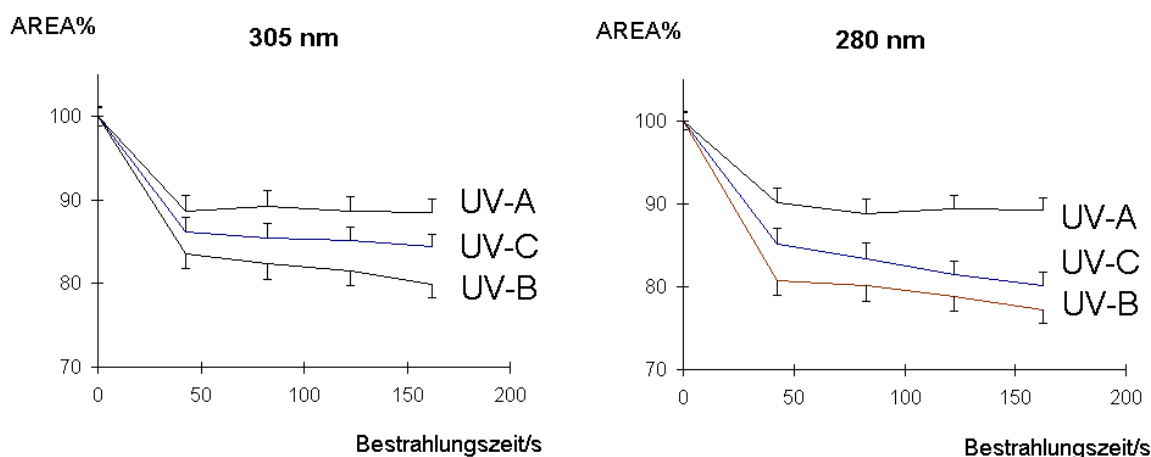


Abbildung 50: 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on:

Graphische Darstellung der Flächen% der UVD bei den Detektionswellenlängen 305 nm und 280 nm in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit.

Flächen%: Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100.

Die Fehlerindikatoren beruhen auf der Standardabweichung der bestimmten Flächen.

Die Abnahme der Absorption bei 305 nm kann auch hier auf die Bildung des entsprechenden *Z*-Isomers zurückgeführt werden. Die mit zunehmender Bestrahlungszeit abnehmenden Peakflächen lieferten dabei einen Hinweis auf die Überlagerung eines photo-stationären Gleichgewichtszustands durch eine photochemische Degradation (vgl. Kapitel 2.3.2.5.).

3.3.3.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Durch die Schaltung des photochemischen Reaktors in ein HPLC-UVD-System mit Bestrahlung vor der Trennsäule konnte nach kurzen Bestrahlungszeiten mit allen eingesetzten Strahlern ein weiteres Degradationsprodukt, vermutlich das entsprechende *Z*-Isomer, detektiert werden. Die Injektion einer frisch hergestellten Lösung von 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on führte zu einem Peak (Retentionszeit $t_r = 5,8$ min, Peak 1). Die Synthese von Benzylidencampher-Derivaten durch Kondensation von Campher mit der entsprechenden Benzaldehydverbindung liefert ausnahmslos die entsprechenden, thermodynamisch stabileren *E*-Isomere [87]. Nach Bestrahlung nahm bei allen eingesetzten Strahlern die Peakhöhe des *E*-Isomers ab und ein zweiter Peak (Retentionszeit $t_r = 6,3$ min, Peak 2) wurde detektiert. Bei längeren Bestrahlungszeiten mit dem UV-C-, dem UV-B- und dem Hg-Hochdruck-Strahler traten weitere Peaks im Chromatogramm auf (Abbildung 51).

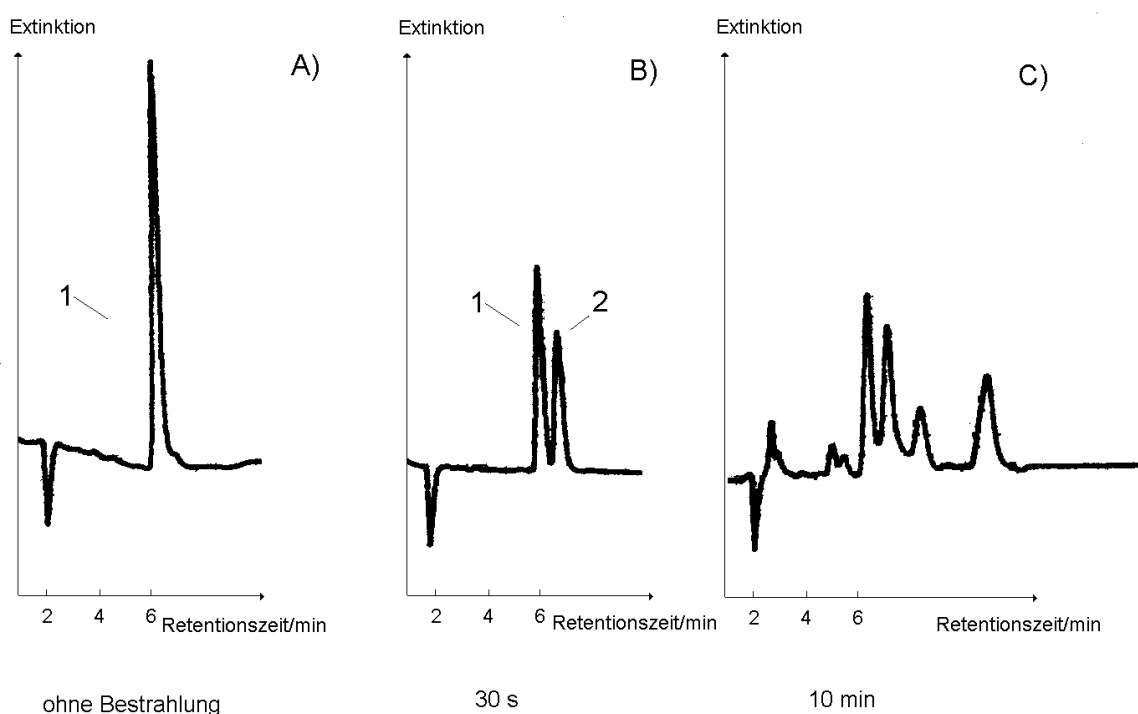


Abbildung 51: Chromatogramme einer
 A) nicht bestrahlten
 B) für 30 s bestrahlten (UV-B) und
 C) für 10 min bestrahlten (UV-B) Lösung von *E*-3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on
 (Detektionswellenlänge $\lambda = 254$ nm) 1: *E*-Isomer; 2: *Z*-Isomer

Analog der Berechnung für *E*-4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester (siehe Kapitel 3.3.2.2.) konnten die Verhältnisse der Absorptionskoeffizienten ebenfalls ermittelt werden. Die anteilmäßige Zusammensetzung des Gemisches, ermittelt mittels HPLC, erfolgte nach kurzer Bestrahlung (30 s), da nach diesem Zeitpunkt keine weiteren Peaks im Chromatogramm auftraten. Im Absorptionsmaximum bei 305 nm gilt, falls keine nicht detektierbaren Photoprodukte auftraten:

$$\text{UV-C:} \quad 0,83 = (\varepsilon_{\lambda E} \cdot 0,54 + \varepsilon_{\lambda Z} \cdot 0,46) / \varepsilon_{\lambda E}$$

$$\text{UV-B:} \quad 0,88 = (\varepsilon_{\lambda E} \cdot 0,51 + \varepsilon_{\lambda Z} \cdot 0,49) / \varepsilon_{\lambda E}$$

$$\text{UV-A:} \quad 0,90 = (\varepsilon_{\lambda E} \cdot 0,72 + \varepsilon_{\lambda Z} \cdot 0,28) / \varepsilon_{\lambda E}$$

Für das Verhältnis der Absorptionskoeffizienten ($\varepsilon_{\lambda Z} / \varepsilon_{\lambda E}$) bei 305 nm wurde 0,68 als Mittelwert berechnet. Eine Zunahme des *Z*-Isomers führte demnach zu einer Abschwächung der UV-B-filternden Eigenschaften, wobei die Abnahme weniger ausgeprägt war, als bei *E*-4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester.

Die Peakhöhe (Peak 1) des *E*-Isomers in % wurde bei 309 nm und 254 nm, mit und ohne Kühlung, verfolgt.

Tabelle 24: Peakhöhe des *E*-Isomers (Peak 1) in %.

Höhen%: Mittelwerte der Höhen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Höhen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100

Einstrahlungs- spektrum	Bestrahlungs- zeit: 30 s		Bestrahlungs- zeit: 10 min		Bestrahlungs- zeit: 40 min		Bestrahlungs- zeit: 120 min	
	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm
UV-C	53,9	53,7	26,7	30,1	18,9	17,8	15,5	15,7
UV-B	50,5	52,5	43,7	41,6	29,9	30,1	24,5	23,1
UV-A	72,2	71,0	71,4	73,6	71,3	70,6	72,5	71,7
Hochdruckstrahler	66,5	65,4	64,0	63,2	59,4	61,5	54,4	55,8

Längere Bestrahlungszeiten führten, außer bei dem UV-A-Strahler, zu einer weiteren Abnahme der Peakhöhen. Bei Einsatz des UV-A-Strahlers war nur Peak 2 als zusätzlicher Peak im Chromatogramm zu erhalten, so daß in diesem Falle die Bedingungen für einen photochemischen Gleichgewichtszustand offenbar vorhanden waren. Bei allen anderen Strahlern konnten nach einiger Zeit zusätzliche Peaks detektiert werden (Tabelle 25):

Tabelle 25: Anzahl der zusätzlich auftretenden Peaks nach Bestrahlung

Einstrahlungs- spektrum	Bestrahlungs- zeit: 30 s		Bestrahlungs- zeit: 10 min		Bestrahlungs- zeit: 40 min		Bestrahlungs- zeit: 120 min	
	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm	254 nm	305 nm
UV-C	1	1	5	4	5	2	3	2
UV-B	1	1	4	3	4	3	4	3
UV-A	1	1	1	1	1	1	1	1
Hochdruckstrahler	1	1	2	2	2	2	2	2

Der Einsatz der Kühlung hatte keinen Einfluß auf die erhaltenen Signale bei allen eingesetzten Strahlern und Bestrahlungszeiten. Eine Erwärmung (bis 70 °C) der Kapillare bewirkte keine Abnahme der Signale der *E*-Form, so daß die erhaltenen Peaks nicht auf Temperatureffekte zurückzuführen waren. Eine Erhöhung der Strahlungsintensität durch Abschalten der Kühlung war nicht entscheidend für die Zusammensetzung des Gemisches. Mit einem Dioden-Array-Detektor wurden die jeweiligen UV-Spektren aufgezeichnet (Abbildung 52 und 53).

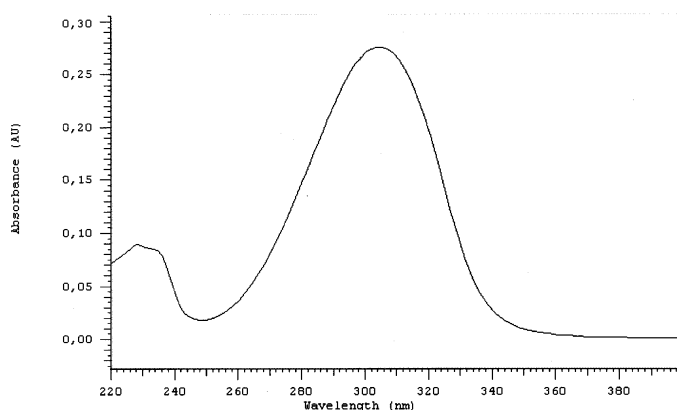


Abbildung 52: UV-Spektrum des *E*-3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on (Peak 1), aufgenommen nach Bestrahlung mit UV-C-Strahlung mittels Dioden-Array-Detektor (Bestrahlungszeit: 10 min)

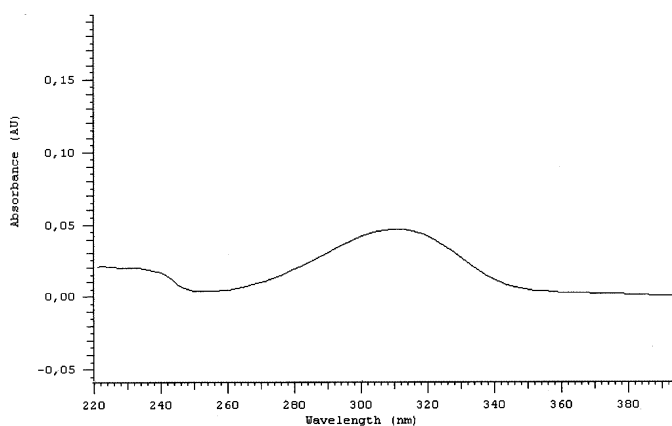


Abbildung 53: UV-Spektrum des *Z*-3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on (Peak 2), aufgenommen nach Bestrahlung mit UV-C-Strahlung mittels Dioden-Array-Detektors (Bestrahlungszeit: 10 min)

Die Photostabilität des *E*-Isomers ist entsprechend als gering einzustufen, da hier eine Umsetzung schon nach 40 s durch alle eingesetzten Strahlungsquellen erfolgte. Die Photostabilität des Isomeren-Gemisches ist hinsichtlich längerwelliger UV-Strahlung (UV-A-Strahler) als ausreichend anzusehen (4 h), während UV-C- und UV-B-Strahlung schon nach 10 min zu photochemischen Abbauprodukten führte. Da sich das entsprechende Gemisch der beiden Isomeren weiterhin zersetzt, ist es für zukünftige Arbeiten sicherlich von Interesse, diese photochemischen Produkte näher zu charakterisieren.

3.3.4 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion

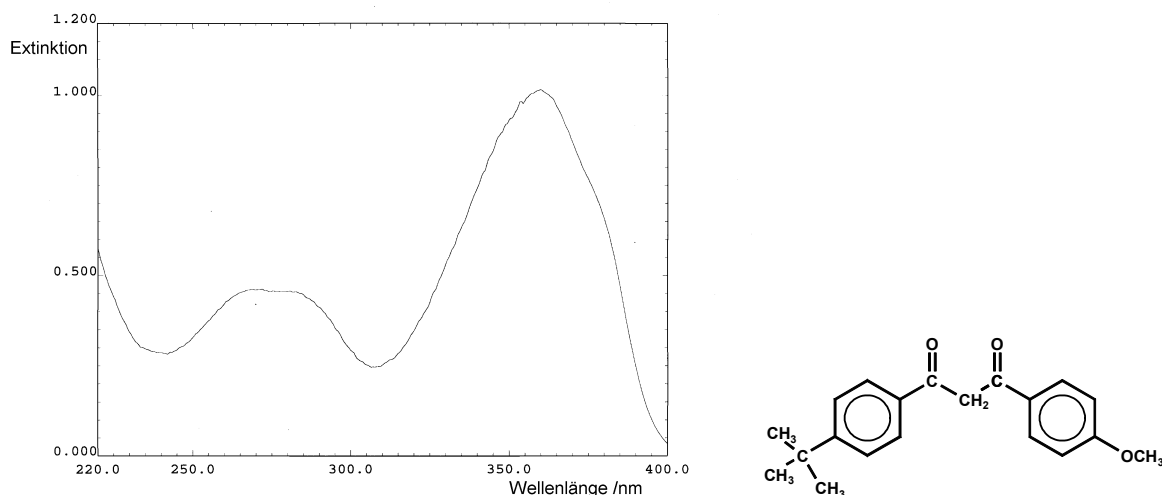


Abbildung 54: UV-Spektrum von 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion; $c = 0,1 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Methanol/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion wies Absorptionsmaxima bei 360 nm und 285 nm auf und absorbierte vor allem im UV-A-Bereich. Die Absorptionseigenschaften waren abhängig vom pH -Wert und der Temperatur. Erwärmung führte zu einer Abnahme der Absorption bei 360 nm und einer Zunahme derjenigen bei 285 nm, da die Lage des Keto-Enol-Gleichgewichtes von der Temperatur beeinflusst wird (siehe Kapitel 2.3.2.6.). Durch Deprotonierung im alkalischen Milieu bedingt durch die CH -Acidität bzw. durch Enolat-Bildung [89] erfolgte eine bathochrome Verschiebung (λ_{max} : 365 nm).

3.3.4.1 Fließinjektionsanalyse

Bei einer angelegten Spannung von +1,2 V waren sowohl ohne als auch mit Bestrahlung keine Signale zu erhalten. Nach Bestrahlung mit UV-C-Strahlung nahmen die Flächen der Signale der UVD hingegen auch bei diesem UV-Filter ab, dargestellt in Abbildung 55. Dieser Effekt zeigte sich vor allem am Absorptionsmaximum bei 360 nm. Der Einsatz des UV-B- und UV-A-Strahlers führte allerdings nicht zu signifikanten Unterschieden.

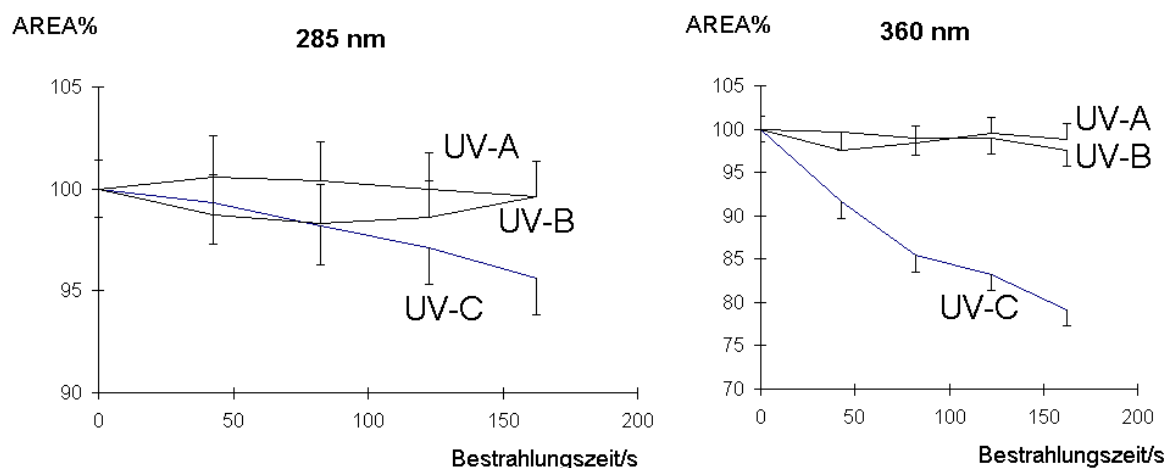


Abbildung 55: 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion:

Graphische Darstellung der Flächen% der UVD bei den Detektionswellenlängen 360 nm und 285 nm in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit.

Flächen%: Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100

Die Fehlerindikatoren beruhen auf der Standardabweichung der bestimmten Flächen.

Da die Absorptionseigenschaften von der Temperatur abhängig waren, wurde ein weitergehendes Screening der UVD bei vier Detektionswellenlängen, jeweils mit und ohne Einsatz der Kühlung, nach einer Bestrahlungszeit von 10 min durchgeführt.

Tabelle 26: Flächen% nach 10 min UV-C-, UV-B- und UV-A-Bestrahlung: Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100; signifikante Veränderungen (t -Test; $P = 0,9$, $f = 6$): **fett gedruckt**

Detektions- wellenlänge [nm]	UV-C Kühlung an	UV-C Kühlung aus	UV-B Kühlung an	UV-B Kühlung aus	UV-A Kühlung an	UV-A Kühlung aus
260	98	98	104	107	103	110
285	87	84	102	106	108	111
300	98	95	99	99	102	104
360	78	68	95	92	93	91

Bei einer längeren Bestrahlungszeit konnten signifikante Veränderungen im Absorptionsmaximum bei UV-B- und UV-C-Bestrahlung erkannt werden. Wurde bei 300 nm detektiert, konnten keine signifikanten Unterschiede bei allen drei Strahlern festgestellt werden, somit waren die Absorptionseigenschaften der entstandenen Produkte bei dieser Wellenlänge weniger von denen der Ausgangsverbindung abweichend, als bei den anderen Detektionswellenlängen. Der Auswahl der Detektionswellenlänge kommt damit, gerade bei der FIA, eine große Bedeutung zu.

Bei Abschalten des Ventilators nahm die Absorption im Maximum bei allen drei Strahlungsquellen stärker ab. Bei UV-B- und UV-A-Strahlung führte ein Abschalten zu einer Zunahme der Absorption bei 260 und 285 nm. Der Einsatz der Kühlung erforderte vor allem die Berücksichtigung der Strahlungsintensitätserhöhung bei erhöhter Temperatur (siehe Kapitel 3.2.3.2.4.) und gleichzeitig die Verschiebung des Keto-Enol-Gleichgewichtes.

Da es sich um die Überlagerung mehrerer Effekte handelte, war eine Untersuchung mittels HPLC für weitere Aussagen empfehlenswert.

3.3.4.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Die chromatographische Trennung von 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-propan-1,3-dion führte bereits ohne Bestrahlung zu zwei Peaks (Retentionszeit t_r = 3,5 min: Peak 1; Retentionszeit t_r = 7,8 min: Peak 2), dargestellt in Abbildung 56).

Peak 1 war bei der Wellenlänge von 360 nm nicht detektierbar. Da Peak 2 bei 360 nm detektierbar war, handelte es sich um die chelatierten Enolformen, die im UVA-Bereich absorbieren (siehe Kapitel 2.3.2.6.).

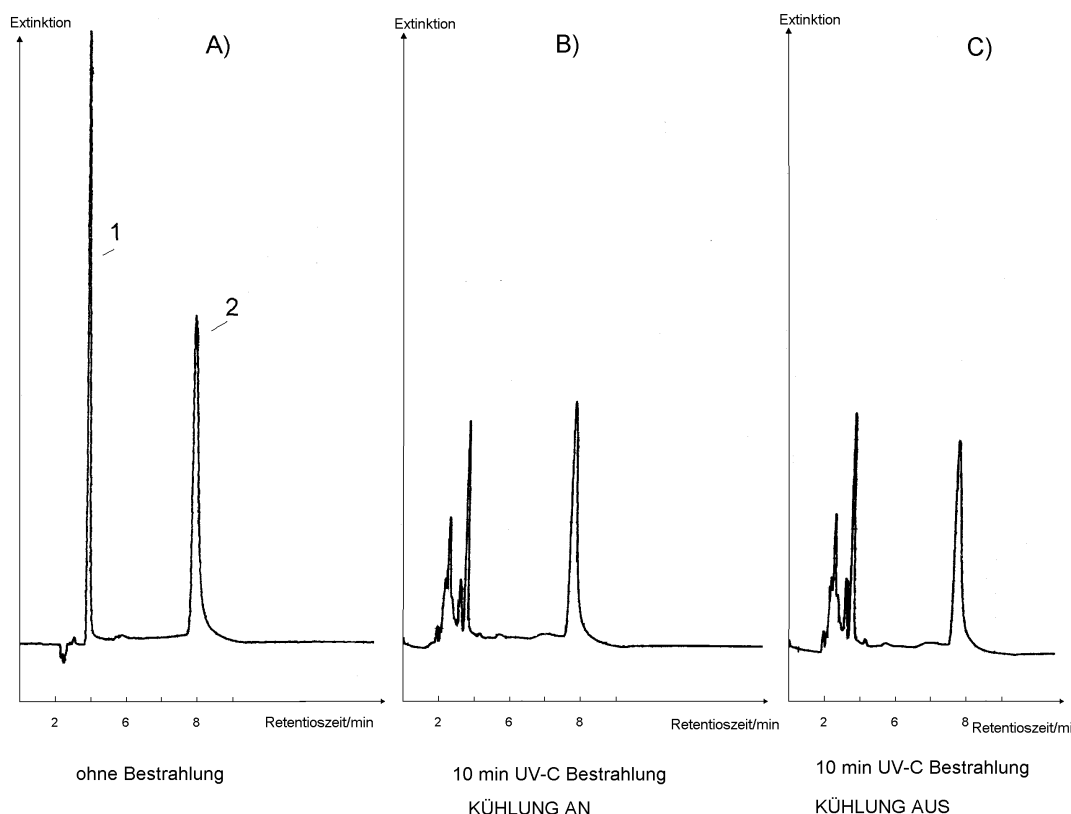


Abbildung 56: Chromatogramme einer

A) nicht bestrahlten

B) unter Einsatz der Kühlung für 10 min bestrahlten (UV-C) und

C) ohne Kühlung für 10 min bestrahlten (UV-C)

Lösung von 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion;

Detektionswellenlänge $\lambda = 280 \text{ nm}$

1: Keto-Form; 2: Enol-Form

An diesem Beispiel konnte die Möglichkeit der Variation der Temperatur durch den photochemischen Reaktor genutzt werden. Erwärmen der Reaktionskapillare auf 50°C ergab eine Gleichgewichtsverschiebung zugunsten von Peak 1, wobei eine Abnahme von Peak 2 auf $95 \pm 3 \%$ und eine Zunahme der Peakhöhe von Peak 1 auf $105 \pm 3 \%$ erfolgte. Nebenpeaks wurden bei der Bestrahlung mit allen vier Strahlern detektiert, wobei es sich in der Regel um polarere Verbindungen handelte.

Durch den Einsatz eines Dioden-Array-Detektors wurden die entsprechenden UV-Spektren der beiden Peaks ermittelt. Peak 1 absorbierte nicht im längerwelligen UV-Bereich, wie es für die Keto-Form zu erwarten war [55].

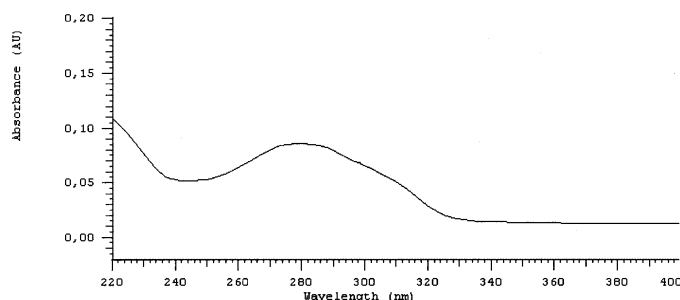


Abbildung 57: UV-Spektrum des Peak 1 einer Lösung von 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion ohne Bestrahlung

Das zu Peak 2 gehörige UV-Spektrum hingegen wies eine starke Absorptionsbande im UV-A Bereich auf und wurde daher den Enol-Formen zugeordnet.

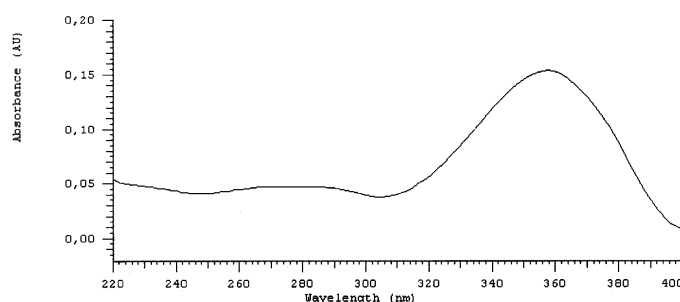


Abbildung 58: UV-Spektrum des Peak 2 einer Lösung von 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion ohne Bestrahlung

Die Lage des Gleichgewichts beeinflusst damit zunächst die UV-Filter-Eigenschaften. Erwärmung auf 50 °C führt zu einer Abnahme der UV-A-Filterleistung. Dieser Effekt sollte bei der praktischen Anwendung als UV-Filter berücksichtigt werden. Die Peakhöhen der Enol-Formen nahmen vor allem nach Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler ab, wobei die Abnahme ohne Ventilator stärker ausgeprägt war (Tabelle 27). Da sich allein durch Erwärmen eine Abnahme der Enol-Form auf ca. 95 % ergab, mußte überprüft werden, inwieweit die Abnahme der Peakhöhe bei Einsatz der anderen Strahlungsquellen tatsächlich ein photochemischer Prozeß oder eine rein thermische Umwandlung darstellte.

Tabelle 27: Peakhöhe der Enol-Form (Peak 2) in %: Mittelwerte der Höhen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Höhen bei $T_{\text{hv}} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100; signifikante Veränderungen (t -Test, $P = 0,9$, $f = 6$): **fett gedruckt**

Einstrahlungs- spektrum	Bestrahlungszeit: 10 min KÜHLUNG AN	Bestrahlungszeit: 10 min KÜHLUNG AUS	Bestrahlungszeit: 40 min KÜHLUNG AN	Bestrahlungszeit: 40 min KÜHLUNG AUS
UV-C	72,7	63,6	21,5	16,9
UV-B	101,4	95,8	92,5	88,9
UV-A	102,1	96,4	103,1	95,2
Hochdruckstrahler	99,8		95,6	

Die Peakhöhe der Ketoform nahm bei allen Strahlungsquellen ab, wobei signifikante Veränderungen durch UV-A-Bestrahlung erst nach 40 min auftraten (Tabelle 28). Eine sogenannte Photoketonisation, die bisher auch nur in unpolaren Solventien bemerkt wurde [55], konnte unter den angegebenen Bedingungen daher nicht beobachtet werden. Da die Peakhöhen von Peak 1 und Peak 2 abnahmen, konnte es sich nicht um eine rein thermische Verschiebung handeln, somit sollte eine photochemische Umsetzung stattgefunden haben. Die Peakhöhen stiegen nach Abschalten des Ventilators an, da sich das Gleichgewicht zugunsten der Keto-Form verschoben hatte.

Tabelle 28: Peakhöhe der Keto-Form (Peak 1) in %: Mittelwerte der Höhen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Höhen bei $T_{\text{hv}} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100; signifikante Veränderungen (t -Test, $P = 0,9$, $f = 6$): **fett gedruckt**

Einstrahlungs- spektrum	Bestrahlungszeit: 10 min KÜHLUNG AN	Bestrahlungszeit: 10 min KÜHLUNG AUS	Bestrahlungszeit: 40 min KÜHLUNG AN	Bestrahlungszeit: 40 min KÜHLUNG AUS
UV-C	33,1	37,4	11,4	14,1
UV-B	86,4	93,0	75,2	77,4
UV-A	96,6	97,4	91,4	94,4
Hochdruckstrahler	97,8		94,1	

Bemerkenswert ist die geringe photochemische Umsetzung durch den UV-A-Strahler, obwohl die Substanz gerade in diesem Bereich ein starkes Absorptionsvermögen besitzt. Die Degradation wird vermutlich nicht durch die Absorption ($\pi \rightarrow \pi^*$) im langwelligen UV-

Bereich ausgelöst [52]. Die Photoreaktion über einen $n \rightarrow \pi^*$ angeregten Triplettzustand ist auch durch die Struktur der bisher identifizierten Photoprodukte angezeigt. Sie sind alle auf zwei radikalische Vorstufen zurückzuführen, entweder basierend auf einem Benzoyl- oder Phenacylradikal. Wahrscheinlicher ist daher eine Degradation durch Anregung der 1,3-Diketoformen [52]. Aus der Diketoform heraus können Photolysereaktionen im Sinne von Norrish-Typ-I-Spaltungen (α -Spaltungen) erfolgen und die entsprechenden primär gebildeten Radikale können sich durch Reaktion mit Sauerstoff bzw. durch Wasserstoffübertragungen zu den verschiedenen Produkten stabilisieren [110]. Falls der photochemische Prozeß tatsächlich nur über die Keto-Form laufen sollte, ist zu beachten, daß der photochemische Abbau durch erhöhte Temperaturen unter Umständen gesteigert werden kann, da die "reaktive" Form dann in größerem Ausmaß vorliegt.

3.3.5 4-Aminobenzoesäure

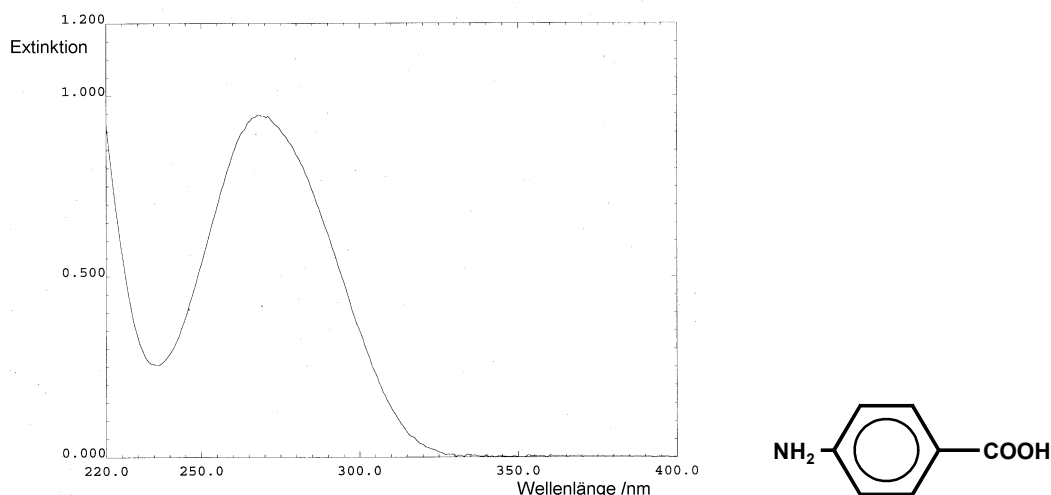


Abbildung 59: UV-Spektrum von 4-Aminobenzoesäure; $c = 0,1 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

Da die Photochemie der PABA im Vergleich zu den anderen untersuchten UV-Filtern am besten dokumentiert ist, wurde diese als Modells substanz für die Variation von zusätzlichen Einflußfaktoren, wie pH -Wert, Zusammensetzung der mobilen Phase oder Konzentration ausgewählt (Versuchsdurchführung: Kapitel 4.4.2. und 4.4.3.). Außerdem wurde neben dem UVD und ECD auch ein fluorimetrischer Detektor eingesetzt.

4-Aminobenzoesäure wies ein Absorptionsmaximum bei 270 nm auf und ist ein klassischer UV-B-Filter. Die Absorptionseigenschaften waren unabhängig von der Temperatur. Aufgrund der beiden pka -Werte ($\text{pka}_1 = 2,5$; $\text{pka}_2 = 4,9$) [111] ergab sich eine starke pH -Abhängigkeit der UV-Spektren, wobei sich bei $\text{pH} = (\text{pka}_1 + \text{pka}_2)/2 = 3,7$ eine bathochrome Verschiebung ($\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$) ergab (siehe Abbildung 61). Es wird postuliert, daß die freie Form vor allem als dipolares Zwitterion existiert, wobei die Verbindung in Wasser zu 83 % in der dipolaren und zu 17 % in der neutralen Form vorliegen soll [112]. Die bathochrome Verschiebung basiert jedoch auf dem Vorliegen elektronenziehender (-COOH) und elektronenschiebender (-NH₂) Substituenten und der damit verbundenen erweiterten Konjugation des π -Elektronensystems [113]. Dies beruht auf dem Vorliegen der neutralen Form. Der pka -Wert von Benzoesäure beträgt 4,2 [114], so daß der pka von 4,9 der Carboxylgruppe zugeordnet werden sollte (Die Erhöhung der Elektronendichte durch die Aminogruppe sollte zu einer Erhöhung des pka -Wert führen). Aufgrund der UV-Spektren und der Zuordnung der pka -Werte sollte die Verbindung vor allem in der neutralen Form vorliegen.

Ein Zusatz von 10 % Acetonitril oder Methanol beeinflusste die Absorptionseigenschaften nicht.

Der prozentuale Anteil der jeweiligen Form der PABA in Abhängigkeit vom pH-Wert wird in Abbildung 60 dargestellt. Bei dem für das Screening ausgewählten pH-Wert von 5,5 lag neben der freien Form vor allem die vollständig deprotonierte Form vor.

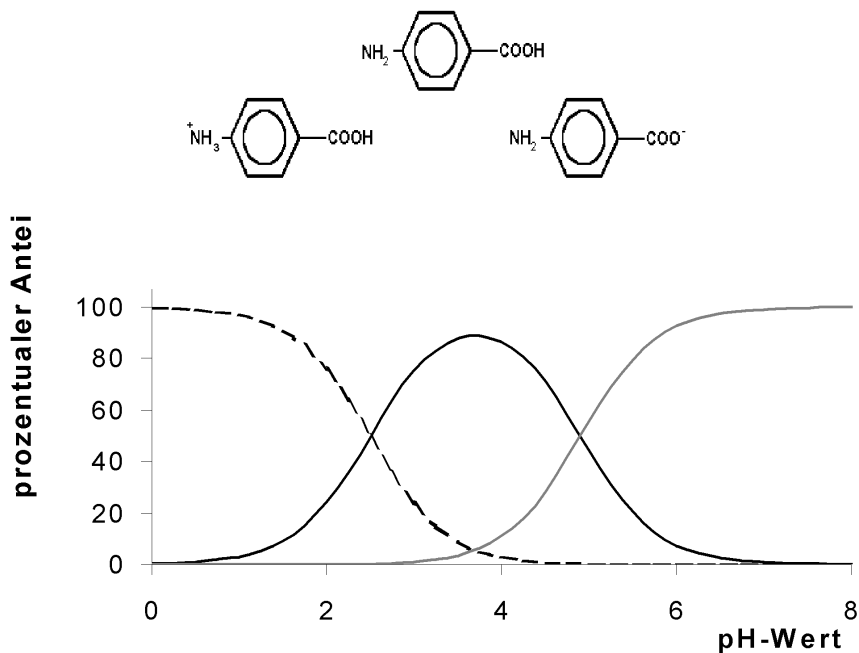


Abbildung 60: Prozentualer Anteil der jeweiligen Form der 4-Aminobenzoesäure in Abhängigkeit vom pH-Wert

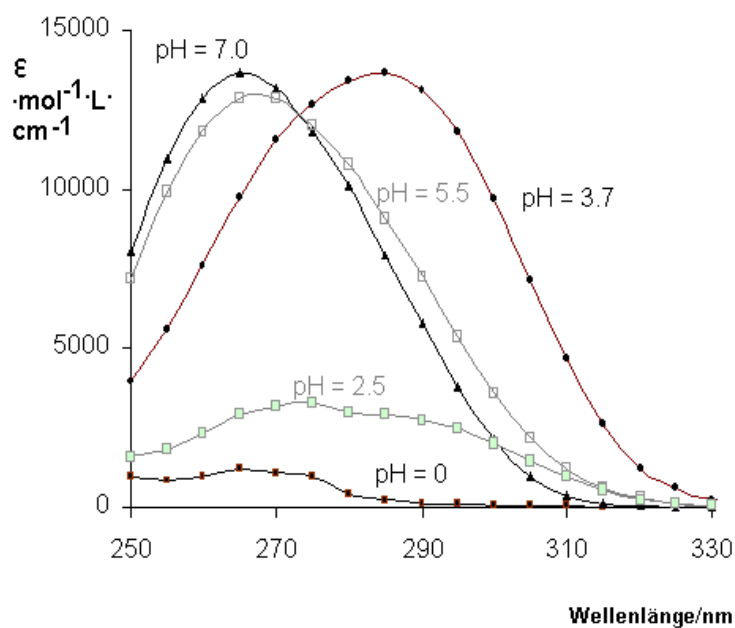


Abbildung 61: UV-Spektren von 4-Aminobenzoesäure; $c = 0,1 \text{ mg/L}$ (normiert auf den molaren Absorptionskoeffizienten) bei $\text{pH} = 0; 2,5; 3,7; 5,5$ und $7,0$

3.3.5.1 Fließinjektionsanalyse

3.3.5.1.1 UV-Detektion

Nach Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler und dem UV-B-Strahler nahmen die Peakflächen der Signale der UVD im Absorptionsmaximum bei 270 nm ab. Detektion bei 254 nm führte zu einer Zunahme der Peakflächen bei Bestrahlung mit dem UV-B-Strahler, wohingegen Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler zunächst zu einer Zunahme (nach 50 s), anschließend aber zu einer Abnahme der Peakflächen führte.

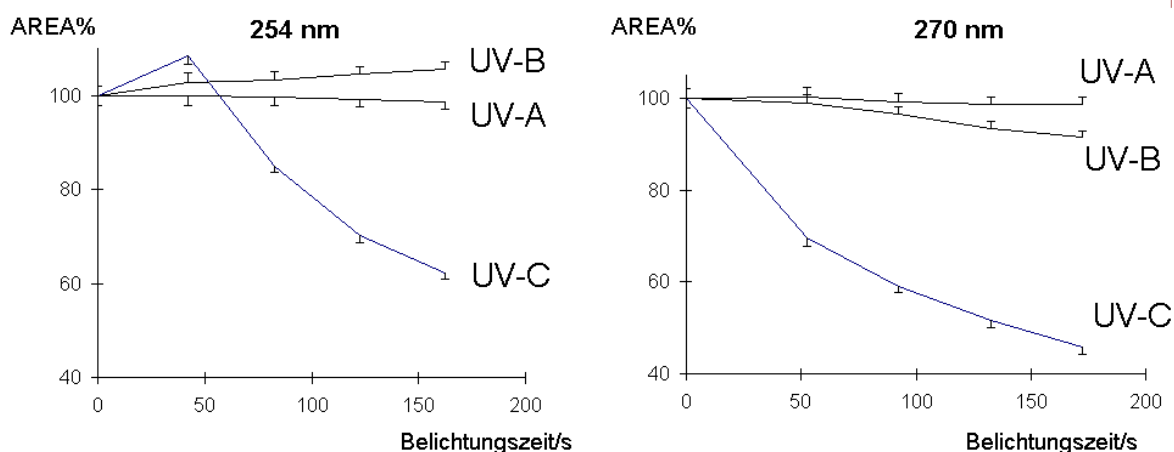


Abbildung 62: 4-Aminobenzoessäure:

Graphische Darstellung der Peakflächen% der UVD bei den Detektionswellenlängen 254 nm und 270 nm in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit.

Flächen%: Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$

Die Fehlerindikatoren beruhen auf der Standardabweichung der bestimmten Flächen.

Somit handelte es sich bei der UV-C-Bestrahlung nicht um eine einheitliche Reaktion, d.h. es lief nicht nur eine linear unabhängige Reaktion ab. Die Einheitlichkeit einer Reaktion kann man unabhängig vom Auftreten isobestischer Punkte auf graphischen Wege durch Absorptionsdiagramme untersuchen.

Trägt man die im zeitlichen Verlauf einer Reaktion gemessenen Absorptionswerte bei einer beliebigen Wellenlänge gegen die Absorptionswerte bei einer anderen, ebenfalls beliebigen Wellenlänge auf, so muß eine Gerade entstehen, falls eine einheitliche Reaktion vorliegt [115].

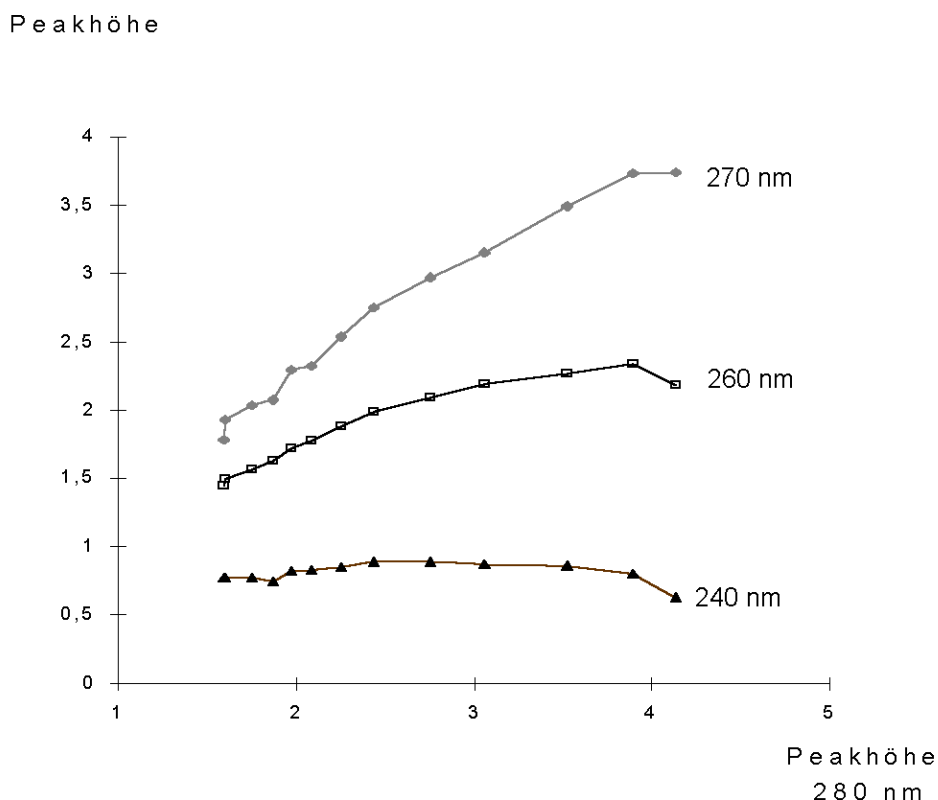


Abbildung 63: 4-Aminobenzoesäure: Absorptionsdiagramm: Auftragen der Werte der Peakhöhen (Mittelwerte) bei drei verschiedenen Wellenlängen gegen die Peakhöhe bei 280 nm.

Die Integration des Photoreaktors in ein FIA-System stellte damit eine einfache Methode dar, um die Einheitlichkeit einer photochemischen Reaktion zu überprüfen. Hierfür war ein Dioden-Array-Detektor am geeignetsten, es konnten aber auch zwei UV-Detektoren hintereinander geschaltet werden, so daß die gleiche Probe bei zwei verschiedenen Wellenlängen detektiert wurde. Das Auftreten einer nicht linearen Reaktion durch UV-C-Bestrahlung wurde mittels HPLC näher untersucht (siehe folgendes Kapitel).

Wurden verschiedene Konzentrationen der PABA verwendet ergaben sich signifikante Unterschiede der Abbaukinetiken.

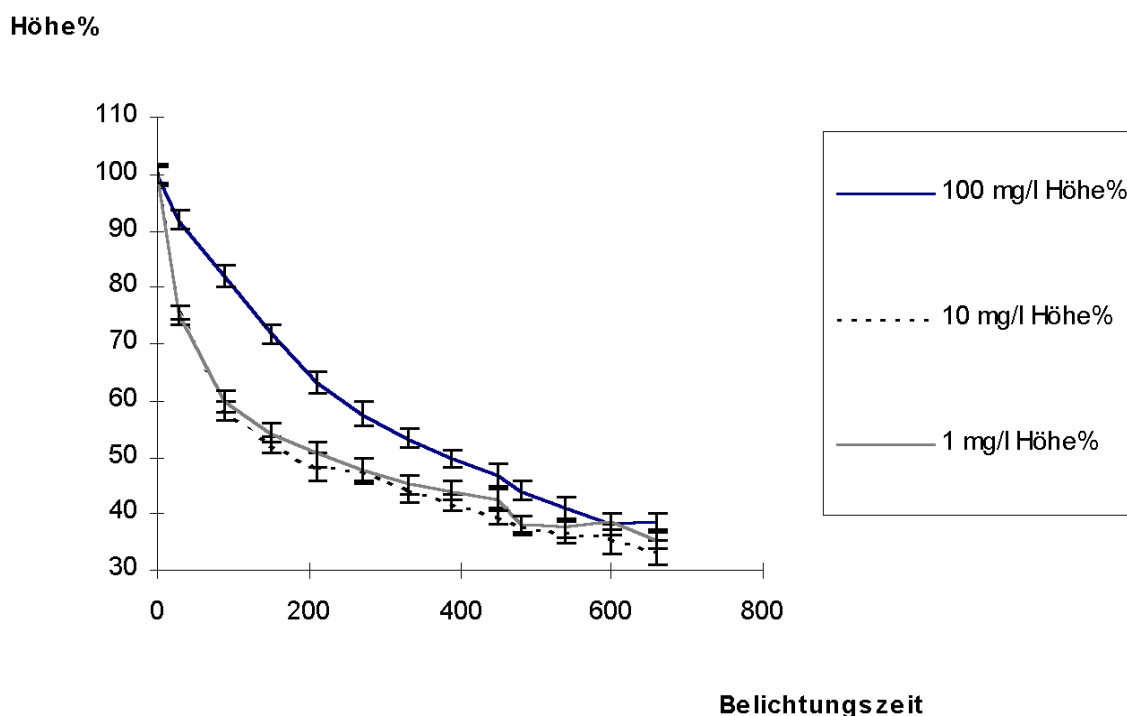


Abbildung 64: 4-Aminobenzoesäure:

Graphische Darstellung der Peakflächen% der UVD bei der Detektionswellenlänge 270 nm in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und der eingesetzten Konzentration. (Mittelwerte der Peakhöhen ($n = 3$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100)

Die Degradationen der Konzentrationen 1 mg/L, 2,5 mg/L und 10 mg/L waren vergleichbar, während eine Konzentration von 100 mg/L zu einer langsameren Abnahme der Absorption bei 270 nm führte. Zu berücksichtigen war, daß die Reaktion je nach eingesetzter Konzentration einer anderen Reaktionsordnung folgen kann (vgl. Kapitel 2.2.4.).

Würde der Abbau einer Reaktion 0. Ordnung folgen, wäre der Umsatz aufgrund der nur begrenzt absorbierbaren Photonen zwar unabhängig von der eingesetzten Konzentration, bei einer Darstellung der AREA% würde sich aber, aufgrund der verschiedenen Anfangskonzentrationen, dennoch ein Unterschied ergeben.

Im Bereich zwischen 0. und 1. Ordnung sollte die Darstellung der AREA% ebenfalls abhängig von der Konzentration sein.

Nur im Bereich 1. Ordnung kann aus Gleichung 16 (Kapitel 2.2.4.) folgender Zusammenhang berechnet werden:

$$AREA\% = \frac{c_A}{c_0} \cdot 100 = 100 \cdot e^{-\varphi_A \cdot I_0 \cdot \chi \cdot d \cdot t}$$

Gleichung 33

Das Verhältnis der Konzentration nach einer bestimmten Zeit t zur Ausgangskonzentration (c_A/c_0) ist nur in diesem Falle unabhängig von der Ausgangskonzentration c_0 . Eine Voraussetzung, die für geringere Konzentrationen (1; 2,5 mg/L und 10 mg/L) angenommen werden könnte.

Weiterhin können auch die entstandenen Photoprodukte im relevanten Wellenlängenbereich Strahlung absorbieren und damit die eingestrahlte Quantenstromkonzentration I_0 verringern (interner UV-Filter-Effekt). Bei Gemischen kann die absorbierte Strahlungsintensität I_{abs}^A der Verbindung A nach Gleichung 17 (Kapitel 2.2.4.) berechnet werden. Im Falle einer niedrigen Gesamtabsorption (Reaktionsbedingungen 1. Ordnung) kann folgende neue Gleichung (aus Gleichung 17 und Gleichung 15, Kapitel 2.2.4.) aufgestellt werden:

$$I_a^A = \frac{A_{\lambda}^A}{A_{\lambda}} \cdot I_{a,ges} = \frac{A_{\lambda}^A}{A_{\lambda}} \cdot I_0 \cdot (1 - 10^{-A_{\lambda}}) = \frac{A_{\lambda}^A}{A_{\lambda}} \cdot I_0 \cdot A'_{\lambda} = A'_{\lambda}^A \cdot I_0$$

Gleichung 34

Die absorbierte Quantenstromkonzentration ist in diesem Falle abhängig von der eingestrahlten Quantenstromkonzentration und der Absorption der Verbindung bei der entsprechenden Wellenlänge, aber unabhängig von der Gesamtabsorption und daher unabhängig von der Absorption der Photoprodukte. Relevant wird der Einfluß der Photoprodukte daher erst bei einer größeren Gesamtabsorption. Das Nichtbeachten der Absorption der photochemischen Produkte in vielen Arbeiten wurde von Matsura *et al.* kritisiert, wobei diese ausgehend von der allgemeinen Gleichung 13 (Kapitel 2.2.4.) eine Gleichung zur Berücksichtigung der photochemischen Produkte aufstellten [116]. Unter Reaktionsbedingungen 1. Ordnung könnte dieses Problem durch das Aufstellen von Gleichung 34 jedoch vernachlässigt werden.

3.3.5.1.2 Amperometrische Detektion

Bei einer angelegten Polarisationsspannung von +1,2 V nahmen die Signale der ECD mit zunehmender Bestrahlungszeit ebenfalls ab.

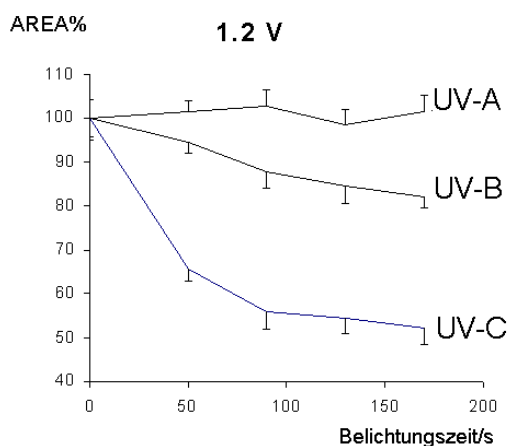


Abbildung 65: 4-Aminobenzoesäure:

Graphische Darstellung der Peakflächen der ECD bei einer angelegten Polarisationsspannung von 1,2 V in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit. (UV-C-Strahler)

AREA% : Mittelwerte der Flächen ($n = 4$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100.

Die relativen Standardabweichungen der Signale der ECD der PABA (2,5 - 7,8 %) waren im Vergleich zur UVD höher. Weiterhin nahmen nach mehrfachen Injektionen die Peakhöhen ab. Die Überprüfung der Nullwerte vor und nach Bestrahlung führte bei der ECD, im Gegensatz zur UVD, zu signifikanten Unterschieden. Die Abnahme der Empfindlichkeit der ECD wird meist auf Veränderungen an der Elektrodenoberfläche zurückgeführt [117]. Adsorptionen der Edukte oder Produkte oder auch Filmbildungen können zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führen [109]. Für die Auswertung in Abbildung 65 wurde als Nullwert daher der Mittelwert aus dem Wert vor der Bestrahlung und dem Wert am Ende der Bestrahlung eingesetzt. Diese formale Auswertung ermöglichte es Aussagen bezüglich der Veränderungen durch UV-Strahlung zu treffen. Der Einsatz der ECD war aber aufgrund der geringeren Reproduzierbarkeit kritisch zu bewerten.

Bei geringeren angelegten Polarisationsspannungen stiegen die Signale nach Bestrahlung an, ein Hinweis für die Entstehung von Photoprodukten, die bei niedrigeren Potentialen erfassbar sind (Abbildung 66).

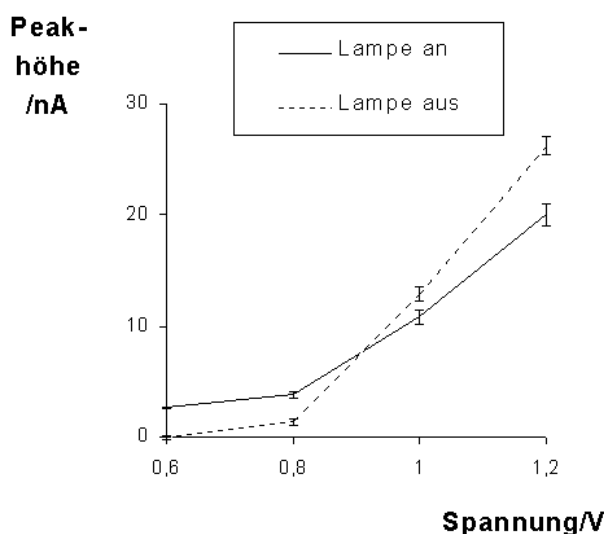


Abbildung 66: 4-Aminobenzoessäure:

Graphische Darstellung der Peakhöhen der ECD (Mittelwerte, $n = 4$) bei einer angelegten Polarisationsspannung von +0,6, +0,8, +1,0 und +1,2 V mit und ohne UV-C-Bestrahlung in einer ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,254$ mm). $c = 0,5$ mg/L.

Fehlerindikatoren: $\pm \text{sdv}(y)$.

Um weitere Aussagen bezüglich der entstandenen Photoprodukte zu treffen, wurde ein HPLC-System eingesetzt.

3.3.5.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Mittels on-line Bestrahlung und nachfolgender chromatographischer Trennung ließen sich nicht nur die Photoprodukte näher charakterisieren, sondern auch der Abbau der PABA unter Variation diverser Parameter verfolgen. Bei der Wahl eines anderen Fließmittels war zu beachten, daß sowohl die Retentionszeiten der Ausgangsverbindung als auch diejenigen der photochemischen Degradationsprodukte von der Fließmittelzusammensetzung abhängig sind. Veränderungen von Parametern, wie pH-Wert oder der Anteil der organischen Komponente bewirken neben anderen Bestrahlungsbedingungen auch andere chromatographische Trennbedingungen. Der Einfluß des Mediums konnte daher am besten durch die Verfolgung der Signale der Ausgangsverbindung verfolgt werden. Hinweise auf Peakreinheit konnten dabei durch den Einsatz verschiedener Detektoren (ECD, UVD und Fluoreszenzdetektor) gewonnen werden.

3.3.5.2.1 UV-Detektion

Sowohl nach UV-B- als auch nach UV-C-Bestrahlung konnte der Abbau der PABA in Abhängigkeit der Expositionszeit verfolgt werden, wobei jeweils vier bis fünf Nebenpeaks, je nach Versuchsbedingungen, photometrisch detektiert worden sind (Abbildung 67).

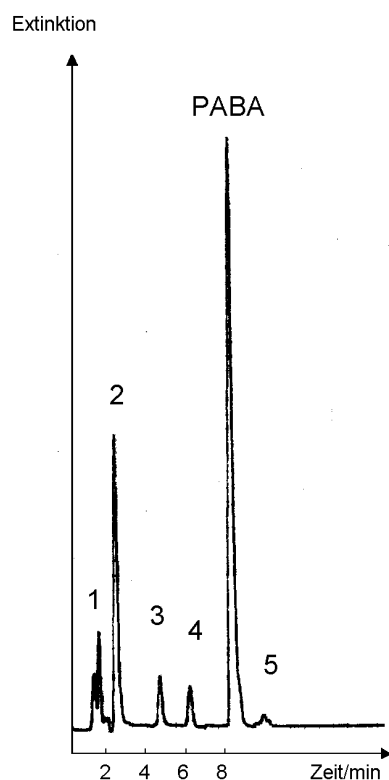


Abbildung 67: Chromatogramm einer PABA-Lösung (1 mg/L) nach 10 min UV-B-Bestrahlung, Fließgeschwindigkeit: 0,5 mL/min, Acetonitril/HOAc-NaOAc-Puffer (pH = 5,5) (10/90,v/v)

Der Abbau durch den UV-B-Strahler verlief dabei langsamer als durch den UV-C-Strahler. Da neben der Ausgangsverbindung auch die entsprechenden Photoprodukte degradieren (siehe Abbildung 68), mußte jeweils eine optimale Bestrahlungszeit gefunden werden, um die Anzahl der Photoprodukte anzugeben. Weiterhin wird die Nichteinheitlichkeit der Reaktion (vgl. FIA) durch die Bildung der Photoprodukte und den anschließenden Abbau erklärbar.

Alle Produkte, die bei 254 nm detektierbar waren, konnten auch im längerwelligen Bereich bei 270 bzw. 283 nm erfaßt werden, so daß auch durch die Degradationsprodukte eine UV-B Filterleistung erfolgt.

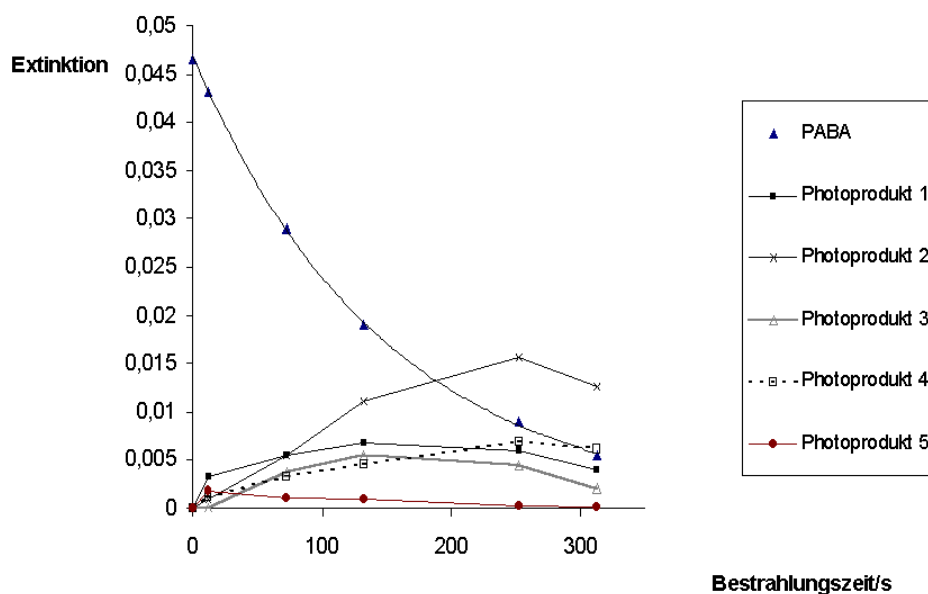


Abbildung 68: Peakhöhen der PABA und der durch UV-C-Bestrahlung entstanden Nebenpeaks in Abhängigkeit der Bestrahlungszeit.

Fließmittel: Methanol/HOAc-NaOAc-Puffer pH = 5,5 (10/90,v/v)

Detektionswellenlänge $\lambda = 254 \text{ nm}$

Die Angaben über die Anzahl der Photoprodukte in Tabelle 29 beziehen sich auf die im Vergleich mit dem Chromatogramm der unbestrahlten Probe zusätzlich auftretenden Peaks. Außerdem wurden auch die Chromatogramme des bestrahlten Fließmittels herangezogen. Eine Veränderung der Peakhöhe der Nebenpeaks bei verschiedenen Bestrahlungszeiten ließen weiterhin auf photochemisch entstandene Produkte rückschließen. Mittels UV-A-Bestrahlung konnten keinerlei Nebenpeaks (nach 4 h) detektiert werden.

Tabelle 29: Anzahl der mittels UVD erfaßbaren Photoprodukte der PABA in Abhängigkeit vom Einstrahlungsspektrum, der Fließmittelzusammensetzung und der Detektionswellenlänge

Fließmittel	Strahlungsquelle	pH	Wellenlänge [nm]	Anzahl der Nebenpeaks $t_R < t_{R \text{ PABA}}$ // $t_R > t_{R \text{ PABA}}$
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung $pH = 2,5$ (30:70 v/v)	UV-C	2,5	254	3//1
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung $pH = 2,5$ (30:70 v/v)	UV-B	2,5	254	3//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-C	5,5	270	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-B	5,5	270	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-C	5,5	254	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-B	5,5	254	4//1
Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-C	5,5	254	4//1
Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-B	5,5	254	4//1
Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)	UV-C	5,5	270	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,7$ (10:90 v/v)	UV-C	3,7	254	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,7$ (10:90 v/v)	UV-B	3,7	254	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,7$ (10:90 v/v)	UV-C	3,7	270	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v)	UV-C	7	254	4//1
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v)	UV-C	7	270	4//1
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v) ⁻	UV-C	7	270	4//1
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v) ⁻	UV-B	7	270	4//1

In der Regel ergab sich ein ähnliches Produktspektrum, wobei sich bei $pH = 2,5$ nur vier zusätzliche Peaks erfassen ließen. Inwieweit tatsächlich ein Photoprodukt weniger entstanden ist, läßt sich schwer beurteilen, da aufgrund der Variation der mobilen Phase sich auch die Retentionszeiten stark veränderten und dadurch eine Trennung nicht unter den gleichen Bedingungen statt fand. Bei einem pH -Wert von 2,5 und einem Zusatz von 10 % Acetonitril ergab sich eine sehr hohe Retentionszeit (> 60 min), so daß der Anteil Acetonitril auf 30 % erhöht werden mußte und dadurch neben dem pH -Wert auch der Anteil der organischen Phase verändert wurde.

Das logarithmische Auftragen der prozentualen Peakflächen der PABA (Werte: siehe Anhang 12) ergab einen Hinweis für den Abbau nach Reaktionsbedingungen 1. Ordnung, analog Gleichung 16, Kapitel 2.2.4.

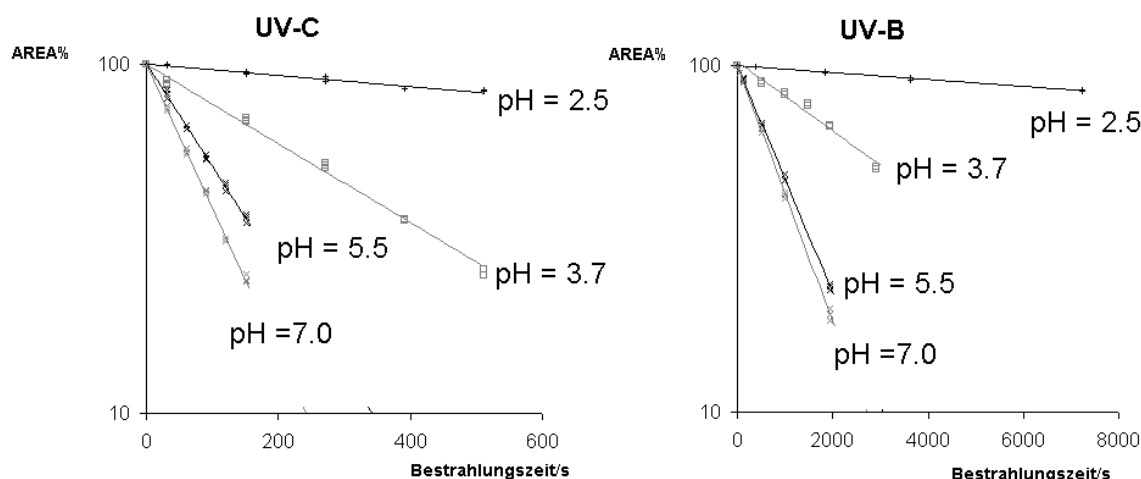


Abbildung 69: Logarithmische Darstellung der UVD Flächen% einer PABA-Lösung (1,0 mg/L)
Mobile Phase:

- 1) Acetonitril/Perchlorsäure-Lösung $pH = 2.5$ (30:70 v/v)
- 2) Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3.7$ (10:90 v/v)
- 3) Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5.5$ (10:90 v/v)
- 4) Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 7.0$ (10:90 v/v)

Die Degradation verlief bei höheren pH -Werten schneller. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen (z.B. $pH = 5,5$; UV-C-Bestrahlung) konnte die Absorption falls keine Dispersion eintritt nach dem Lambert-Beer-Gesetz formal berechnet werden mit:

$$A_{254\text{ nm}} = \varepsilon_{254\text{ nm}} \cdot [A] \cdot d_{\text{mittel}} = 9730 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 1,786 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 0,020 \text{ cm} = 0,0035$$

Vor allem die geringe Schichtdicke war ausschlaggebend für die geringe Absorption, so daß eine Reaktion 1. Ordnung bezüglich der Ausgangsverbindung naheliegend war. Weiterhin ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Degradation unterschiedlicher Konzentrationen (Auftragung der AREA %, Auftragemasse: 10 ng, 20 ng und

50 ng, siehe Anhang **13**), so daß ein weiterer Hinweis für eine Reaktion 1. Ordnung in diesem Konzentrationsbereich vorlag. Die Durchführung einer Regressionsanalyse ($A = A_0 \cdot e^{-kt}$) erlaubte die Bestimmung von k , wobei als Startwerte für die Auswertung mittels des Levenberg-Marquardt Algorithmus, die durch lineare Regression der logarithmierten Werte erhaltenen Konstanten eingesetzt wurden.

Tabelle 30: PABA - Bestrahlung vor der Trennsäule bei verschiedenen pH-Werten: Ergebnisse der Regressionsanalyse $A = A_0 \cdot e^{-kt}$
UV-C

Fließmittel	A_0 [%]	sdv (A_0) [%]	$k \cdot 10^3$ [s ⁻¹]	sdv(k) · 10 ³ [s ⁻¹]	Korrelations- koeffizient R^2
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	100,1	1,259	9,570	0,243	0,998
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	100,3	0,526	9,450	0,090	1,000
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	100,4	0,765	6,780	0,122	0,999
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	100,1	0,849	6,630	0,135	0,999
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	98,5	1,625	2,480	0,119	0,995
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	100,1	0,795	0,361	0,0293	0,974

UV-B

Fließmittel	A_0 [%]	sdv (A_0) [%]	$k \cdot 10^3$ [s ⁻¹]	sdv(k) · 10 ³ [s ⁻¹]	Korrelations- koeffizient R^2
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	100,3	0,795	0,877	0,0223	0,999
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	100,1	0,262	0,855	0,0072	1,000
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	99,9	1,041	0,829	0,0354	0,998
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	100,3	0,213	0,758	0,0053	1,000
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	101,3	2,245	0,217	0,0174	0,978
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	99,7	0,154	0,023	0,0005	0,999

Um die unterschiedlichen Geschwindigkeitskonstanten bei verschiedenen pH -Werten vergleichen zu können, mußten das Einstrahlungsspektrum, die Einstrahlintensität und die Absorptionseigenschaften der Substanz berücksichtigt werden.

Die Einstrahlungsintensität konnte aus den aktinometrischen Messungen abgeschätzt werden (siehe Kapitel 3.2.3.3.) und die stationär aufgenommenen UV-Spektren bei verschiedenen pH -Werten die Absorptionseigenschaften der PABA beschreiben. Unter der Voraussetzung, daß in einem Konzentrationsbereich gearbeitet wurde, in dem eine Reaktion 1. Ordnung erfolgte und damit auch die Absorption der Photoprodukte nicht entscheidend ist, sollte Gleichung 16 (Kapitel 2.2.4.) die Abbaukinetik beschreiben. Damit wurde auch eine Abschätzung der Degradationsquantenausbeuten möglich, wobei bei der polychromatischen Emission neben dem Einstrahlungsspektrum der Strahlungsquelle, das Absorptionsspektrum der Substanz auch eventuelle Abhängigkeiten der Quantenausbeute von der eingestrahlten Wellenlänge berücksichtigt werden sollten. Die formale Berechnung der Quantenausbeute nach Gleichung 16 (Kapitel 2.2.4.) stellte somit vor allem ein Prüffaktor dar, um die Abbaukinetiken besser vergleichen zu können, als denn eine objektive Größe. Für den photochemischen Abbau durch den UV-C-Strahler war nach dem Grundgesetz von Grotthus und Draper, nach dem nur absorbierte Photonen wirksam sein können, die Strahlung der Wellenlängen 254 nm und 311 zu berücksichtigen. Die Überlagerung der UV-Spektren der PABA mit dem Emissionsspektrum des Strahlers führte bei allen pH -Werten nur zu diesen beiden "Schnittstellen" (siehe Anhang 14). Erfolgt die Reaktion 1. Ordnung, ist die Quantenausbeute unabhängig von der Wellenlänge und wird die Schichtdicke mit $d_{\text{mittel}} = 0,257 \text{ mm} \cdot \pi/4 = 0,202 \text{ mm}$ angenommen, gilt:

$$k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$$

Gleichung 35

Für die UV-B-Bestrahlung konnte die Berechnung von $k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ für die Überlagerung der UV-Spektren mit dem Emissionsspektrum des Strahlers in 5 nm Abschnitten erfolgen (Anhang 15).

Somit konnten aus den Geschwindigkeitskonstanten k neben der Halbwertszeit $t_{1/2} = \ln 2/k$ auch die Degradationsquantenausbeuten φ formal berechnet werden:

Tabelle 31: Formale Berechnung der Halbwertszeiten und der Quantenausbeuten der Degradation der PABA in verschiedenen Fließmitteln

UV-C

Fließmittel	pH-Wert	Geschwindigkeitskonstante k [1/s]	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [min]	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [1/s]	Quantenausbeute $\varphi =$ $k / I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	7,0	$9,570 \cdot 10^{-3}$	1,2	0,3564	0,0269
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	7,0	$9,450 \cdot 10^{-3}$	1,2	0,3564	0,0265
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	5,5	$6,780 \cdot 10^{-3}$	1,7	0,3109	0,0218
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	5,5	$6,630 \cdot 10^{-3}$	1,7	0,3109	0,0213
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	3,7	$2,480 \cdot 10^{-3}$	4,7	0,1979	0,0125
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	2,5	$0,361 \cdot 10^{-3}$	32,0	0,0877	0,0041

UV-B

Fließmittel	pH-Wert	Geschwindigkeitskonstante k [1/s]	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [min]	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [1/s]	Quantenausbeute $\varphi =$ $k / I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	7,0	$0,877 \cdot 10^{-3}$	13,2	0,0248	0,0354
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)	7,0	$0,855 \cdot 10^{-3}$	13,5	0,0248	0,0345
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	5,5	$0,829 \cdot 10^{-3}$	13,9	0,0353	0,0235
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	5,5	$0,758 \cdot 10^{-3}$	15,2	0,0353	0,0215
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	3,7	$0,217 \cdot 10^{-3}$	53,2	0,103	0,0021
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	2,5	$0,023 \cdot 10^{-3}$	502,3	0,0366	0,0006

Da nicht nur die Geschwindigkeitskonstanten sondern auch die Quantenausbeuten der Degradation stark pH -abhängig waren, konnte die Veränderung des Absorptionsspektrums nicht die allein ausschlaggebende Komponente für den Einfluß des pH -Wertes darstellen. So führte eine verstärkte Absorption im UV-B Bereich bei Vorliegen der nicht ionisierten Form ($pH = 3,7$) im Vergleich zum Anion ($pH = 7,0$) nicht zu einem schnelleren Abbau der Ausgangsverbindung. Nach Gleichung 11 (Kapitel 2.2.4.) sollte eine höhere absorbierte Einstrahlintensität I_a aber zu einer schnelleren Umsetzung führen. In dem Fall der PABA müssen daher andere Faktoren mitberücksichtigt werden; wie z.B. die Degradation beeinflussende Folgereaktionen. Aus der Literatur ist die starke pH -Abhängigkeit der Quantenausbeuten für die Bildung der Photoprodukte bekannt [53]. Als reaktives Zwischenprodukt wird das Anilin-Radikalkation bzw. dessen deprotonierte Form. postuliert [53,71]. Die Resonanzstrukturen des Radikals zeigen eine Aktivierung der ortho und para Positionen auf:

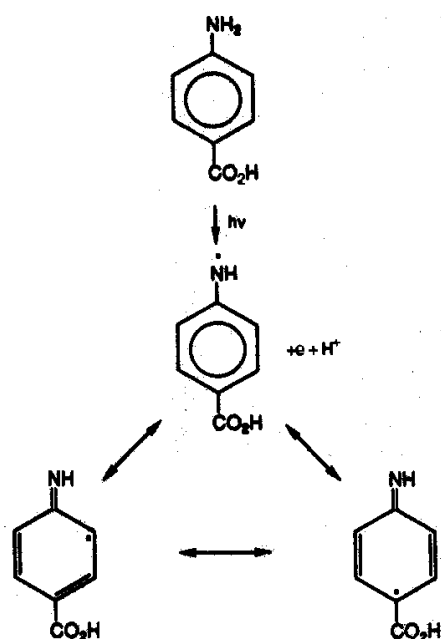


Abbildung 70: Reaktionsschema der photochemischen Bildung des deprotonierten PABA-Radikalkations nach [53]

Die Dissoziation des Kationradikals diene als Erklärungsmodell für die verschiedenen Ausbeuten und Arten an Photoprodukten. Die pH -Abhängigkeit der Bildung der Photoprodukte wird dabei mit der Dissoziation des angeregten Zwitterion-Radikals und dessen basen-katalysierter Konversion zum Anilino-Radikal erklärt [53,118]. Shaw *et al.* [53] postulieren, daß nicht das Radikalkation selbst, sondern das deprotonierte Radikalkation ($HO_2C-Ar-NH\cdot$) bei der Bildung von Photoprodukten die entscheidende

Rolle spielt. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt sei daher die Bildung der deprotonierten Form. Die pH-Wert Abhängigkeit der Bildung des aktiven Agens und damit der Bildung der Photoprodukte beeinflusst offenbar auch die Abnahme an Edukt.

Es ist daher zu berücksichtigen, daß die Photostabilität von UV-Filtern von äußeren Faktoren abhängig ist, deren Einfluß aber unter Umständen schwer vorhersagbar ist. Der Zusatz von Methanol bzw. Acetonitril beeinflusste unter den angegebenen Versuchsbedingungen den photochemischen Abbau nicht signifikant, wie auch der Zusatz von verschiedenen Puffersystemen (Phosphat- oder Acetat-Puffer) bei gleichem pH-Wert.

Um die photochemischen Produkte näher zu charakterisieren, wurden als Vergleichssubstanzen 4-Aminophenol, 4-Aminosaliylsäure und 3-Hydroxy-4-aminobenzoessäure eingesetzt. Als Vergleichskriterien dienten die Retentionszeiten, die Peakhöhen der Signale der UVD, ECD und fluorimetrischen Detektion und das Absorptionsspektrum der Substanzen in vier verschiedenen Fließmitteln. Das Interesse lag vornehmlich darin, die amperometrisch oxidierbaren Photoprodukte (vgl. folgende Kapitel) näher zu charakterisieren. Um neben den Retentionszeiten auswertbare UV-Spektren mittels des Dioden-Array-Detektors als Vergleichsmöglichkeit zu erhalten, mußte die Konzentration der PABA-Lösungen auf 100 mg/L erhöht werden. Damit wurde der Konzentrationsbereich für eine Reaktion 1. Ordnung überschritten (siehe auch: Ergebnisse der FIA), wobei sich die Ausbeute an Photoprodukten zwar erhöhte, das Verhältnis Photoprodukt zu Ausgangsverbindung sich indessen verschlechterte.

Für Peak 4 (siehe Abbildung 67) konnten vergleichbare UV-Spektren und Retentionszeiten mit 4-Amino-3-Hydroxybenzoessäure festgestellt werden.

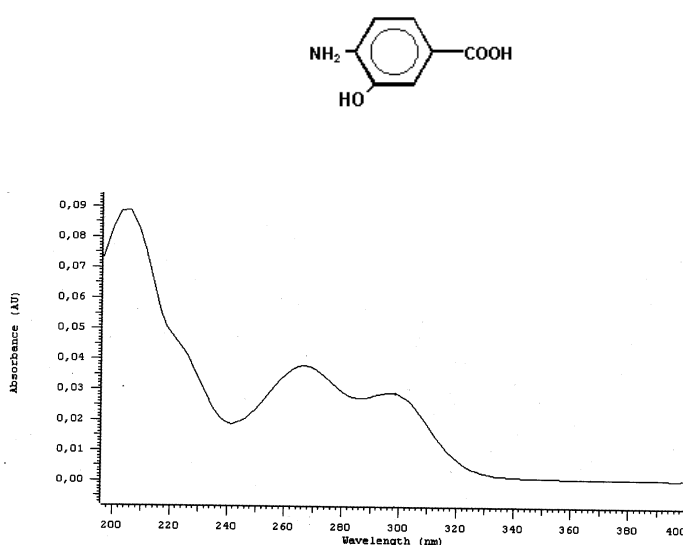


Abbildung 71: Dioden-Array-Detektor: UV-Spektrum der 3-Hydroxy-4-aminobenzoessäure (Vergleichssubstanz) bei einer Retentionszeit von $t_r = 6,3$ min

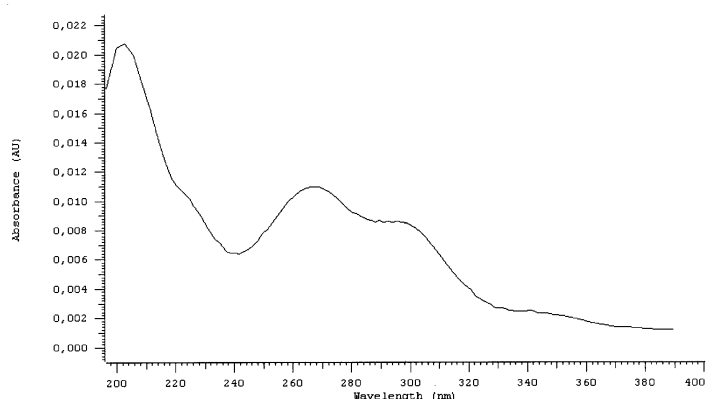


Abbildung 72: Dioden-Array-Detektor: UV-Spektrum des Peak 4 (siehe Abbildung 67) bei einer Retentionszeit von $t_r = 6,3$ min.

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen konnten 4-Aminophenol und 4-Aminosalicylsäure nicht detektiert werden. Die Aktivierung der ortho und para Stellung der PABA durch die photochemische Bildung des mesomeriestabilisierten Radikals läßt die Bildung einer in meta-Stellung hydroxylierten Verbindung wenig wahrscheinlich werden. Eine Reaktion des Radikals, z.B. mit Sauerstoff, würde daher zu 4-Amino-3-Hydroxybenzoesäure und nicht zu 4-Aminosalicylsäure führen.

Die Decarboxylierung des mesomeriestabilisierten Radikals und die weitergehende Reaktion mit Sauerstoff wird als Reaktionsweg der Bildung von 4-Aminophenol beschrieben [53]. Da keiner der detektierten Nebenpeaks mit dem jeweiligem UV-Spektrum (im entsprechenden Fließmittel) von 4-Aminophenol übereinstimmte, mußte davon ausgegangen werden, daß entweder 4-Aminophenol unter den beschriebenen Versuchsbedingungen nicht, oder nur in geringen Konzentrationen, entstanden war oder, daß es durch Folgereaktionen, z.B. photochemisch oder oxidativ [119] bereits wieder abgebaut wurde. 4-Aminophenol ist bisher auch nur als Neben-Photoprodukt identifiziert worden [53].

3.3.5.2.2 Amperometrische Detektion

Bei einer angelegten Polarisationsspannung von +1000 mV konnten die photometrisch detektierbaren Verbindungen auch amperometrisch erfaßt werden.

Die Photoprodukte mußten eine entsprechend funktionelle Gruppe besitzen, die unter den Versuchsbedingungen oxidierbar war. Dies konnte auf den Erhalt der Amino-Funktion oder auf die Entstehung anderer funktioneller Gruppen wie z.B. Phenole hinweisen.

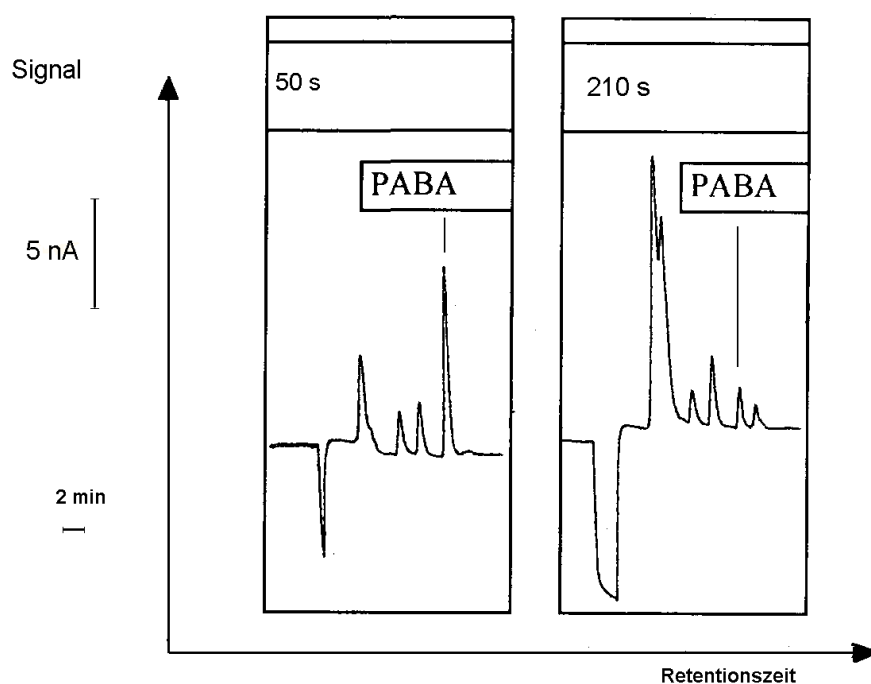


Abbildung 73: Chromatogramme einer PABA-Lösung (1,0 mg/L) nach Bestrahlung vor der Trennsäule (RP-18). Amperometrische Detektion (Elektrode: Glassy Carbon. Polarisationsspannung: +1000 mV gegen eine Ag/AgCl-Elektrode). Flußrate: 0,5 mL/min. Mobile Phase: Acetonitril-Acetat Puffer pH 5,5 (10:90) (v/v). Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 50 s und 210 s.

3.3.5.2.3 Fluorimetrische Detektion

Der Einsatz eines weiteren Detektors erlaubte es, Hinweise auf die Peakreinheit zu gewinnen. Es konnten damit sowohl die Ausgangsverbindung PABA (bei einer Anregungswellenlänge von 280 nm und einer Detektionswellenlänge von 300 nm) detektiert werden als auch zwei fluoreszierende Photoprodukte (Peak 4 und 5, siehe Abbildung 67) bei einem pH-Wert von 5,5.

Wurde der Abbau mittels der Fluoreszenzdetektion verfolgt, ergaben sich bei den eingesetzten Fließmitteln in der Regel keine signifikanten Unterschiede der Flächen% bei verschiedenen Bestrahlungszeiten, so daß der PABA-Peak mit hoher Selektivität der Ausgangsverbindung zugeordnet werden konnte.

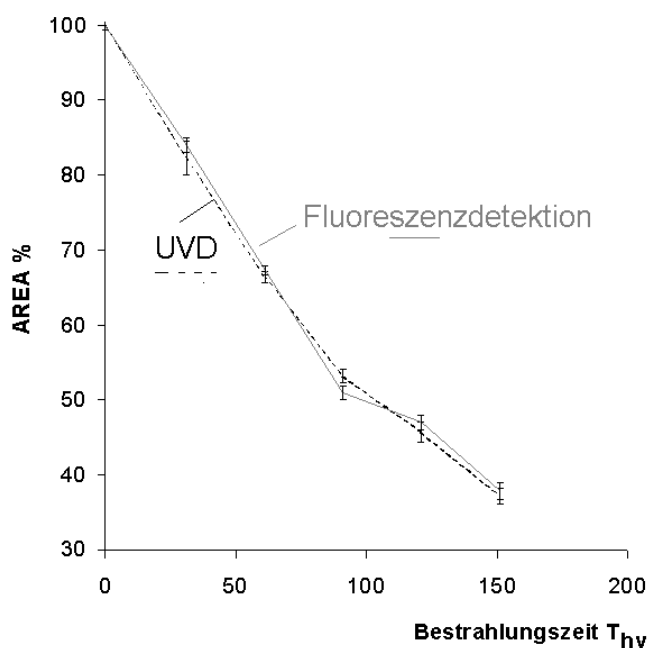


Abbildung 74: Degradation einer PABA-Lösung (1,0 mg/L) durch UV-C-Bestrahlung in einer ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,25$ mm) unter Variation der Bestrahlungszeit durch Unterbrechen der Pumpentätigkeit.

Auftragung der Flächen% der UVD und der Fluoreszenzdetektion. Mobile Phase: Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v). Flußrate: 0,5 mL/min

Weiterhin konnten Aussagen bezüglich der Photoprodukte getroffen werden. Die Verhältnisse der Peakhöhen der beiden eingesetzten Detektoren bei einer Referenzsubstanz werden entsprechend auch für das Photoprodukt erwartet. Da der Peak 4 (4-Amino-3-Hydroxybenzoesäure) unter den angegebenen Bedingungen sowohl die Fähigkeit zur Fluoreszenz besaß als auch die entsprechenden Peakhöhenverhältnisse mit der Referenzsubstanz übereinstimmten, konnte damit ein weiterer Hinweis für die Identität des Photoprodukts 4-Amino-3-Hydroxybenzoesäure gewonnen werden.

3.3.6 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester)

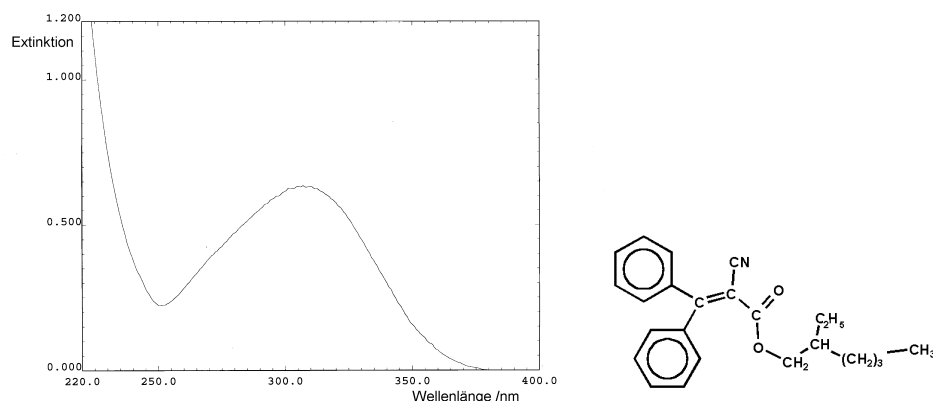


Abbildung 75: UV-Spektrum von 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester); $c = 0,1$ mg/L Lösungsmittel: Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester) (Octocrylen) wies ein Absorptionsmaximum bei 305 nm auf und absorbiert UV-Strahlung vor allem im UV-B und zum Teil auch UV-A Bereich. Die UV-Spektren bei verschiedenen pH -Werten unterschieden sich nicht. Die Substanz war unter den gegebenen Bedingungen nicht elektrochemisch detektierbar. Sie war unter den Versuchsbedingungen photochemisch stabil, da sich die Detektionseigenschaften der Substanz nach Bestrahlung nicht änderten und auch keine photochemischen Degradationsprodukte mittels HPLC aufgetrennt werden konnten.

Aufgrund des Vorliegens einer α,β -ungesättigten Carbonylverbindung kann die photochemische Aktivierung entsprechend der vorangegangenen Verbindungen ähnlicher Struktur angenommen werden. Allgemein kann eine direkte Isomerisierung sowohl über den Triplett T als auch über den Singulett-Zustand 1S erfolgen. Im Grundzustand S_0 liegt das Energieminimum bei maximaler Wechselwirkung der p_π -Orbitale (also bei paralleler Einstellung), während die 1S und T ihr energetisches Minimum bei einem Torsionswinkel von 90° besitzen [80]. Die Rückkehr in den Grundzustand führt anschließend zu den entsprechenden Isomeren. Dieser effektive Mechanismus kann prinzipiell für Octocrylen auch angenommen werden und die photochemische Stabilität erklären, wobei aufgrund der beiden Phenylsubstituenten keine Isomere bei der Rückkehr in den Grundzustand entstehen und daher der Prozeß nicht als Isomerisierung bezeichnet werden kann.

3.3.7 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon

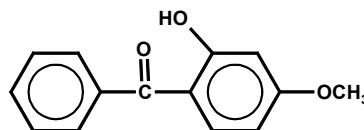
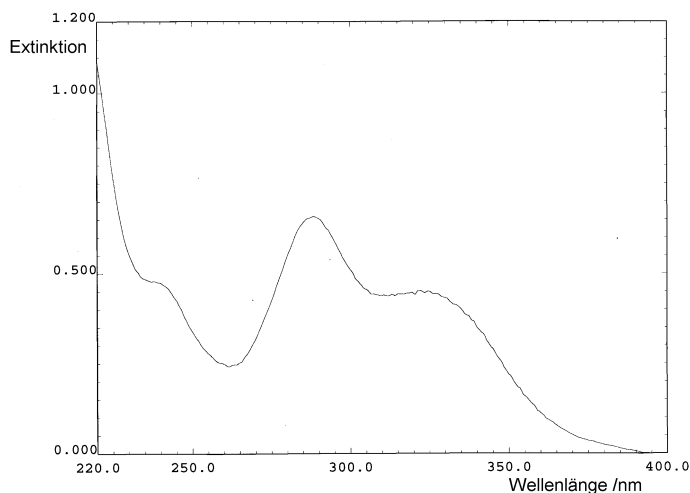


Abbildung 76: UV-Spektrum von 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon; $c = 0,1 \text{ mg/L}$
Lösungsmittel: Methanol/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (90/10); (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon (Oxybenzonum, Benzophenon-3) wies Absorptionsmaxima bei 288 nm und 328 nm auf und absorbiert UV-Strahlung sowohl im UV-C als auch im UV-B und in geringerem Umfang auch im UV-A Bereich. Die pH -Abhängigkeit der UV-Spektren ist bedingt durch die phenolische OH-Gruppe; Deprotonierung führte zu einer bathochromen Verschiebung ($\lambda_{\text{max}} = 370 \text{ nm}$). Die Substanz ließ sich als Phenol elektrochemisch detektieren (Empfindlichkeit im FIA-System: ca. 1 A/g). Sie war unter den Versuchsbedingungen photochemisch stabil, da sich die Detektionseigenschaften der Substanz nach Bestrahlung nicht änderten und auch keine photochemischen Degradationsprodukte mittels HPLC aufgetrennt werden konnten. Die Photostabilität kann durch den schnellen Wasserstoff-Transfer des angeregten Zustands erklärt werden, wobei die Rückreaktion exotherm unter Wärmeabgabe an die Matrix erfolgt [75].

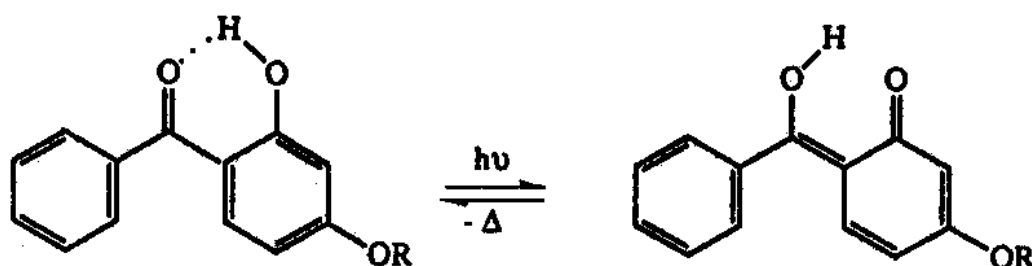


Abbildung 77: Bildung des angeregten Zustands der Benzophenone nach [75].

3.3.8 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure

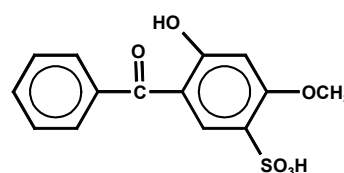
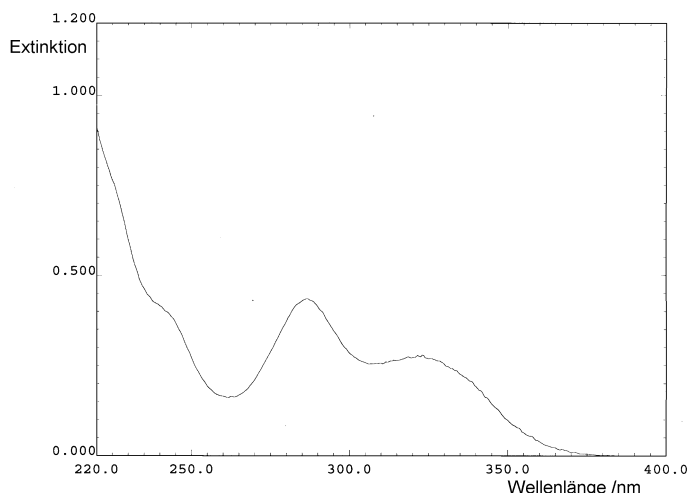


Abbildung 78: UV-Spektrum von 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure; $c = 0,1 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$; (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure (Sulisobenzonum, Benzophenon-4) wies Absorptionsmaxima bei 287 nm und 332 nm auf und absorbiert UV-Strahlung sowohl im UV-C- als auch im UV-B- und in geringerem Umfang auch im UV-A-Bereich. Die pH-Abhängigkeit der UV-Spektren war ebenfalls auf die phenolische OH-Gruppe zurückzuführen; Deprotonierung führt zu einer bathochromen Verschiebung ($\lambda_{\text{max}} = 370 \text{ nm}$). Die Substanz ließ sich als Phenol elektrochemisch detektieren. (Empfindlichkeit im FIA-System: ca. 1 A/g). Sie war unter den Versuchsbedingungen photochemisch stabil, da sich die Detektionseigenschaften nach Bestrahlung nicht änderten und auch keine photochemischen Degradationsprodukte mittels HPLC aufgetrennt werden konnten (vgl. Benzophenon-3).

Um Temperatureffekte unabhängig von einer photochemischen Reaktion zu untersuchen, wurde 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure als im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen photochemisch stabiler UV-Filter als Modellsustanz untersucht (siehe Kapitel 3.3.1.1.).

3.3.9 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat

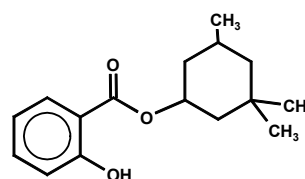
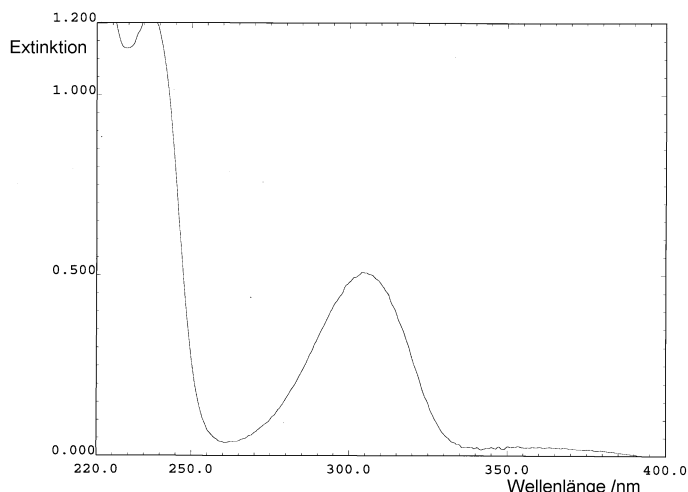


Abbildung 79: UV-Spektrum von 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat; $c = 0,1 \text{ mg/L}$
Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$; (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat (Homosalatum) wies ein Absorptionsmaximum bei 304 nm auf. Die pH-Abhängigkeit der UV-Spektren ist bedingt durch die phenolische OH-Gruppe; Deprotonierung führte zu einer bathochromen Verschiebung ($\lambda_{\text{max}} = 335 \text{ nm}$). Die Substanz ließ sich als Phenol elektrochemisch detektieren. (Empfindlichkeit im FIA-System: ca. 2 A/g).

Die Substanz war unter den Versuchsbedingungen photochemisch stabil, da sich ebenfalls die Detektionseigenschaften nach Bestrahlung nicht änderten und auch keine photochemischen Degradationsprodukte mittels HPLC aufgetrennt werden konnten. Der angeregte Zustand kann analog der Benzophenone durch einen intramolekularen Wasserstofftransfer stabilisiert werden [120].

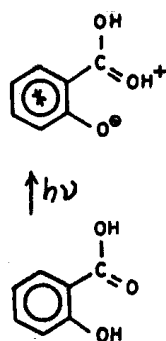


Abbildung 80: Bildung des angeregten Zustands der Salicylsäure nach [120].

Die photoprotektive Wirkung ist daher auf pH -Bereiche beschränkt, in denen das Phenol nicht deprotoniert [121] vorliegt, wobei dies physiologisch aber nicht entscheidend ist.

3.3.10 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure

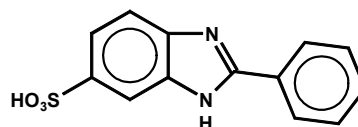
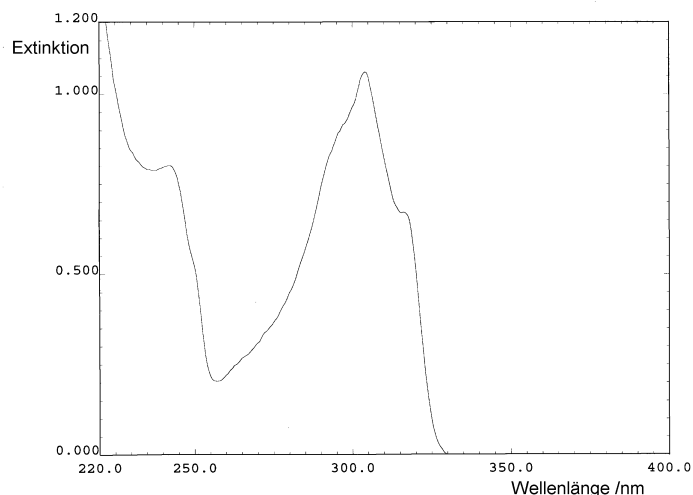


Abbildung 81: UV-Spektrum von 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure; $c = 0,1 \text{ mg/L}$
Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$; (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure wies ein Absorptionsmaximum bei 305 nm mit einer Schulter bei 318 nm auf. Deprotonierung führte zu einer bathochromen Verschiebung (λ_{max} : 312 nm). 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure war elektrochemisch detektierbar. Sie war unter den Versuchsbedingungen photochemisch stabil, da sich die Detektierungseigenschaften der Substanz nach Bestrahlung nicht änderten und auch keine photochemischen Degradationsprodukte mittels HPLC aufgetrennt werden konnten. Diese Ergebnisse entsprechen der bisher durchgeführten Untersuchungen (siehe Kapitel 2.3.2.7.) und 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure ist daher als photochemisch stabiler UV-Filter zu bewerten.

3.3.11 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester

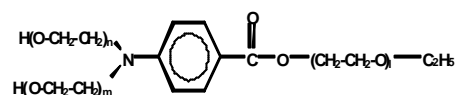
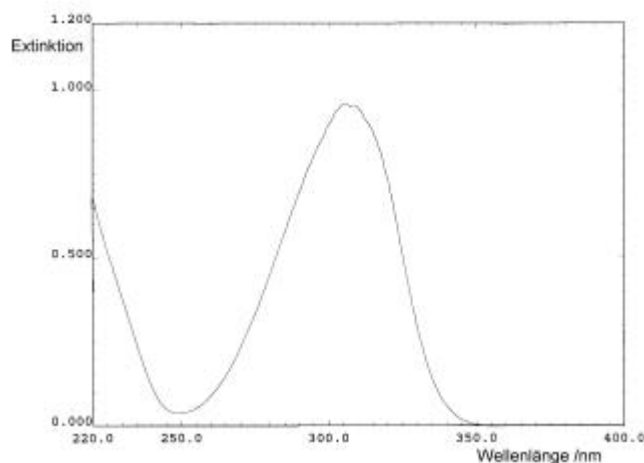


Abbildung 82: UV-Spektrum von 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester; $c = 1,0 \text{ mg/L}$; Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylester wies ein Absorptionsmaximum bei 308 nm auf. Aufgrund der hohen molaren Masse wurde die Aufgabemasse im FIA-System erhöht. Zunächst konnten aber trotzdem kaum auswertbare Peaks erhalten werden. Nach der jeweils folgenden Injektion stiegen aber die Peakflächen, auch ohne Bestrahlung, an (siehe Abbildung 83).

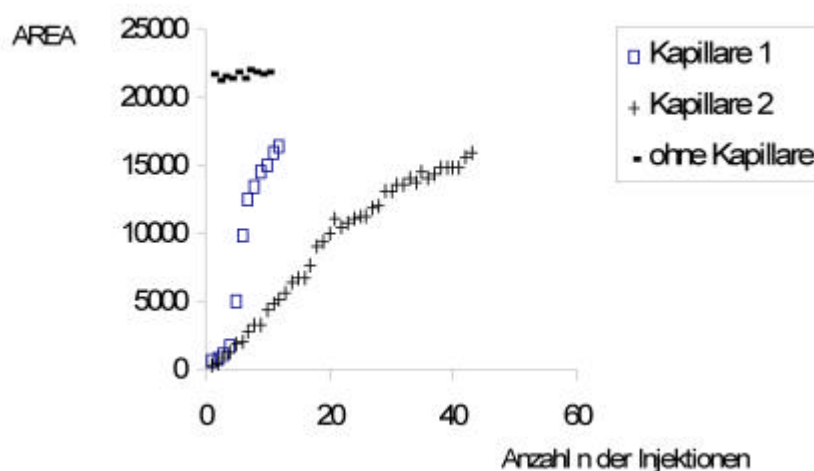


Abbildung 83: Peakflächen der UVD nach Injektion des 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoessäure-polyethoxyethylesters;
 Kapillare 1: Teflon-Kapillare ($l = 1 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$).
 Kapillare 2: Tefzel-Kapillare ($l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$)

Ohne Einsatz der Kapillaren konnten konstante Werte der Peakflächen erhalten werden, so daß die Reaktionsschleifen für diesen Effekt verantwortlich waren. Eine mögliche Erklärung stellen Adsorptionsprozesse dar, wie sie von Polyethylenglykolen an PTFE [122] bereits bekannt sind. Der Anstieg der Peakflächen nach mehrfacher Injektion könnte dabei einen Hinweis auf Sättigung der möglichen Adsorptionsstellen hinweisen.

Die Untersuchung der Substanz führt daher zu der Feststellung, daß der photochemische Reaktor bzw. die eingesetzten Kapillaren aus ETFE und PTFE nicht für alle Substanzen optimal geeignet ist.

3.3.12 4-Acetamidobenzoessäure

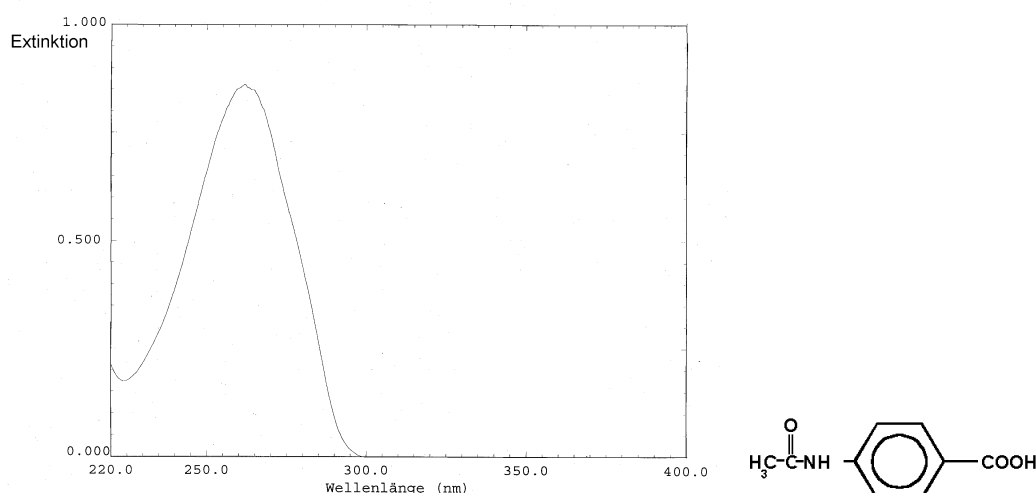


Abbildung 84: UV-Spektrum von 4-Acetamidobenzoessäure; $c = 1.0 \text{ mg/L}$
Lösungsmittel: Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (ermittelt mit einem Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC)

4-Acetamidobenzoessäure ist kein zugelassener UV-Filter, wurde aber zusätzlich auf photochemische Stabilität untersucht. Ziel war es vor allem Hinweise auf amperometrisch detektierbare Verbindungen wie im Falle der PABA zu gewinnen. Eine Optimierung analytischer Methoden durch Einsatz des photochemischen Reaktors nach der Trennsäule sollte unter Umständen möglich sein (siehe folgende Kapitel).

4-Acetamidobenzoessäure wies ein Absorptionsmaximum bei 265 nm auf und absorbiert UV-Strahlung sowohl im UV-C- als auch im UV-B-Bereich. Die Absorptionseigenschaften waren unabhängig von der Temperatur.

3.3.12.1 Fließinjektionsanalyse

Nach Bestrahlung mit dem UV-C-Strahler nahmen die Peakflächen der Signale der UVD im Absorptionsmaximum bei 265 nm ab. Aufgrund der acetylierten Aminogruppe war 4-Acetamidobenzoessäure unter den Versuchsbedingungen nicht amperometrisch detektierbar. Nach Bestrahlung wurden indessen deutliche Signale auch bei niedrigen Polarisationsspannungen erhalten. Erwärmen der Kapillare oder Einsatz des UV-A-Strahlers führten nicht zu den entsprechenden Ergebnissen.

INCLUDEPICTUREMERGEFORMAT

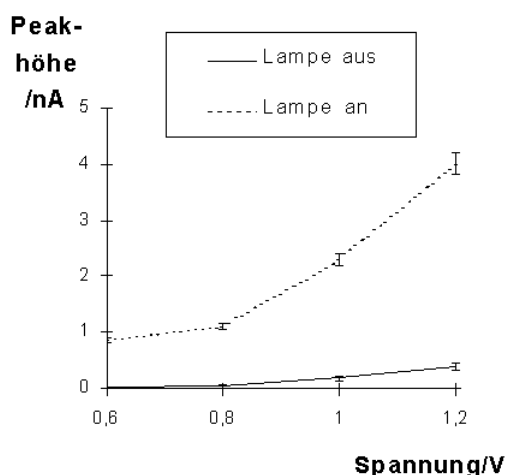


Abbildung 85: 4-Acetamidobenzoessäure: Graphische Darstellung der Peakhöhen der ECD (Mittelwerte \bar{y} , $n = 4$) bei einer angelegten Polarisationsspannung von +0,6; +0,8; +1,0 und +1,2 V mit und ohne UV-C-Bestrahlung in einer ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,254$ mm). $c = 0,5$ mg/L. Fehlerindikatoren: $\pm s_{dv}(y)$.

Erklärungen für die Bildung amperometrisch detektierbarer Verbindungen sind z.B. die Bildung von phenolischen Verbindungen (z. B. durch Hydroxylierungsreaktionen) oder die Bildung der freien Amin-Funktion. Die photochemische Reaktivität von Carbonsäure-Arylesteren ist ausführlich untersucht worden [123, 124], wobei Photoumlagerung durch folgendes allgemeines Schema wiedergegeben werden:

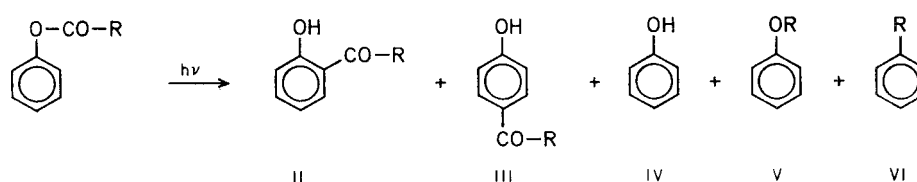


Abbildung 86: Allgemeines Schema der Photoumlagerung von Carbonsäure-arylesteren nach [123]

Die photochemischen Reaktionen zur Bildung der Produkte II und III werden dabei als Photo-Fries-Reaktionen bezeichnet. Analog dazu reagieren auch die entsprechenden Carbonsäure-Arylamide, wobei die Reaktionen als Photo-Anilid-Umlagerungen bezeichnet werden und hier, neben den *ortho* und *para* substituierten Verbindungen, die freie Anilinform entsteht. Im Falle der PAABA würde dies die Bildung von PABA beinhalten, welches durch die im folgenden Kapitel dargestellte HPLC-Untersuchung bestätigt wurde.

3.3.12.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

3.3.12.2.1 UV-Detektion

Die UV-Spektren der Photoprodukte wurden nach Auftragen höherer Konzentrationen an PAABA ($c = 0,1 \text{ g/L}$) mittels Dioden-Array-Detektor aufgenommen, wobei sich analog der PABA das Verhältnis Produkt zu Edukt verschlechterte. Nach Bestrahlung traten zusätzliche Peaks im Chromatogramm auf (Abbildung 87).

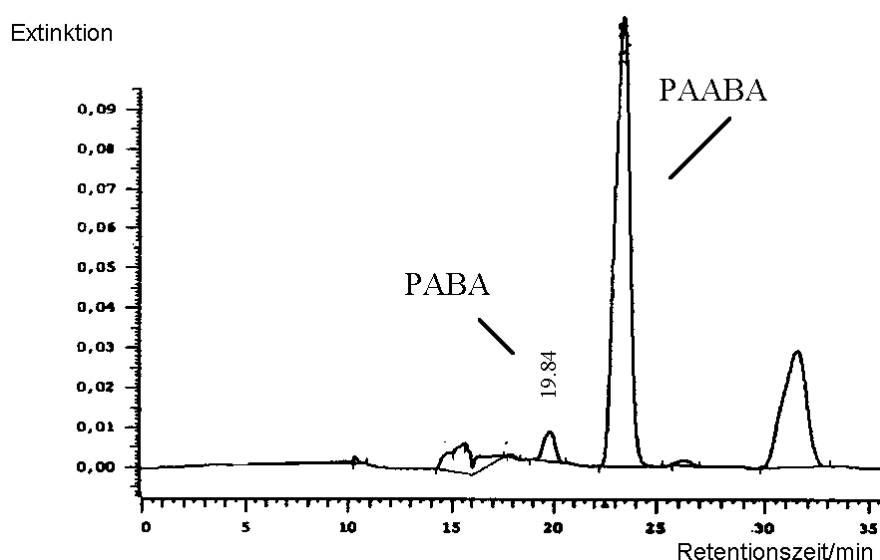


Abbildung 87: Chromatogramm einer PAABA-Lösung ($0,1 \text{ g/L}$) nach 10 min UV-C-Bestrahlung. Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$, Mobile Phase: Acetonitril/HOAc-NaOAc-Puffer ($\text{pH} = 3,7$)(10/90,v/v).

Das UV-Spektrum des Peaks bei einer Retentionszeit von $t_r = 9,84$ (zuzüglich 10 min Bestrahlungszeit) entsprach dem UV-Spektrum der PABA bei dem entsprechenden pH -Wert ($\text{pH} = 3,7$). Die Degradation der PAABA verlief, analog der PABA, auch bei höheren pH -Werten ($\text{pH} = 5,5$) schneller, so daß in dem Falle eine höhere Ausbeute an Photoprodukten erzielt wurde. Eine Auftrennung von PABA und PAABA konnte jedoch nur bei niedrigeren pH -Werten ($\text{pH} = 3,7$) erzielt werden, so daß die Abnahme an PAABA bzw. die Ausbeute an Photoprodukten geringer war.

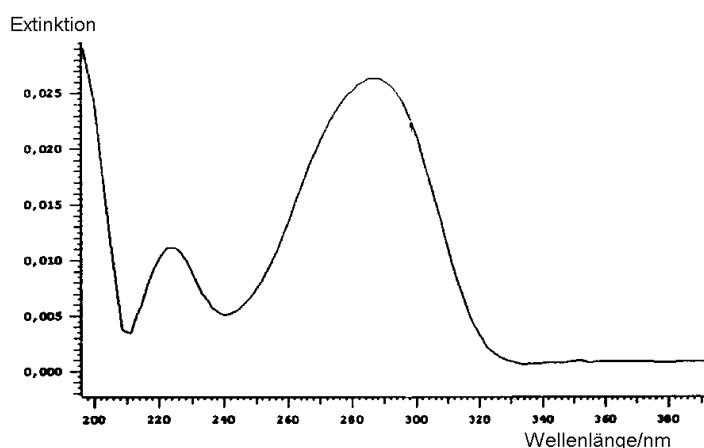


Abbildung 88: Dioden-Array-Detektor: UV-Spektrum des photochemischen Degradationsproduktes (PABA) der PAABA bei einer Retentionszeit von $t_r = 9,84$ min

Ein Vergleich der Chromatogramme, die bei Bestrahlung ohne und mit Einsatz des Ventilators erhalten worden sind, wies auf einen Temperatureinfluß hin. Die Signale der Ausgangsverbindungen nahmen bei höherer Temperatur ab, wohingegen die Signale der Photoprodukte anstiegen (bei Bestrahlung). Eine Erwärmung der Kapillaren führte hingegen nicht zu zusätzlichen Peaks, wie auch die Injektion einer für 10 min auf 60 °C erwärmten Lösung. Zu berücksichtigen war vor allem die Abhängigkeit der Strahlungsintensitäten von der Temperatur (siehe Kapitel 3.2.3.2.4.). Erhöhte Temperaturen durch Abstellen des Ventilators führten zu einer Erhöhung der Einstrahlintensitäten und damit zwangsläufig auch zu einer Zunahme der Photoprodukte.

3.3.12.2.2 Amperometrische Detektion

Beide photochemischen Degradationsprodukte waren amperometrisch bei einer angelegten Polarisationsspannung von +1000 mV detektierbar, wohingegen ohne Bestrahlung keine Peaks zu erhalten waren (Abbildung 89).

3.3.12.2.3 Fluorimetrische Detektion

Beide photochemischen Degradationsprodukte waren durch die Fluoreszenzdetektion zu erfassen.

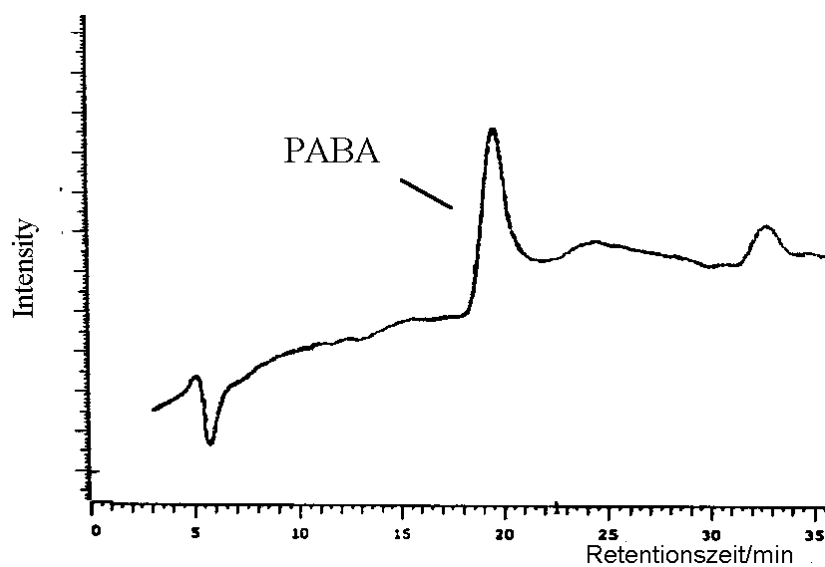


Abbildung 89: Chromatogramm einer PABA-Lösung (2,5 mg/L) nach 10 min UV-C-Bestrahlung. Fließgeschwindigkeit: 0,5 mL/min. Acetonitril/HOAc-NaOAc-Puffer (pH = 3,7)(10/90.v/v)

3.4 Bestrahlung nach der chromatographischen Trennung: Optimierung analytischer Verfahren

Ergebnisse der Bestrahlungen von PABA und PAABA vor der Trennsäule konnten für die Optimierung analytischer Verfahren genutzt werden. Der Versuchsaufbau entsprach in diesem Falle der gängigen Anordnung des Photoreaktors nach der Trennsäule, wobei Vorversuche zur Optimierung von Parametern im FIA-System durchgeführt wurden. Im Vordergrund stand dabei die amperometrische Detektion, da die Fähigkeit der Absorption bei beiden Substanzen im allgemeinen abnahmen und damit eine Erhöhung der Empfindlichkeit der UVD nicht möglich war (siehe Kapitel 3.3.11. und 3.3.12.). Die Kombination der beiden Detektoren - nach der UVD erfolgte die ECD - erlaubte aber die jeweiligen Vorteile der beiden Detektionsarten zu nutzen und sie zudem untereinander zu vergleichen. Die Optimierung basierte auf der Fähigkeit der photochemischen Degradationsprodukte der PABA, bei niedrigeren Polarisationsspannungen erfaßt werden zu können und der Umwandlung der PAABA in Photoprodukte, die im Gegensatz zur Ausgangsverbindung amperometrisch detektiert werden konnten.

Ziel war es den Einfluß des photochemischen Reaktors auf die UV- und amperometrische Detektion der PABA und PAABA zu untersuchen und, wenn möglich, die beiden Substanzen mit hoher Selektivität zu bestimmen. Die quantitative Bestimmung der PABA erfolgte bisher meist mittels HPLC [125-129], wobei u.a. die elektrochemische Detektion genutzt wurde, um die Selektivität im Vergleich zur UVD zu erhöhen [130]. Die Bestimmung der beiden Substanzen (PABA und PAABA) nebeneinander wurde meist mit dem Ziel, die N-Acetyltransferase-Aktivität im Blut menschlicher Probanden zu charakterisieren, durchgeführt [131,132]. Die N-Acetylierung vieler primärer Arylamine spielt eine Schlüsselrolle bei deren Inaktivierung und/oder Eliminierung aus dem Körper. Eine quantitative Bestimmung von PABA und PAABA könnte daher in zukünftigen Arbeiten auch Hinweise auf Enzymaktivitäten liefern.

3.4.1 Optimierung von Parametern

Um das analytische Verfahren zu optimieren, wurden Parameter wie Bestrahlungszeit, Zusammensetzung der mobilen Phase, pH -Wert, angelegte Polarisationsspannung und Temperatur variiert. Der entsprechende Einfluß wurde anhand der Empfindlichkeit, der Linearität, der Nachweisgrenze und der Selektivität dargestellt.

3.4.1.1 Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit E ist das Verhältnis von Meßsignal y zum Analysenwert x [133]. Im allgemeinen ist die Empfindlichkeit amperometrischer Detektoren sehr hoch, wobei neben üblichen Parametern wie dem Arbeitspotential, der Temperatur und dem pH -Wert im Falle des Einsatzes eines photochemischen Reaktors auch die Bestrahlungszeit mitberücksichtigt werden mußte.

Mittels der Fließinjektionsanalyse wurde der Einfluß der *Bestrahlungszeit* auf das amperometrische Signal bei einer angelegten Polarisationsspannung von +600 mV und +800 mV untersucht. Bei höheren pH -Werten wurden höhere Signale bei kürzeren Bestrahlungszeiten erhalten (siehe auch Anhang 16).

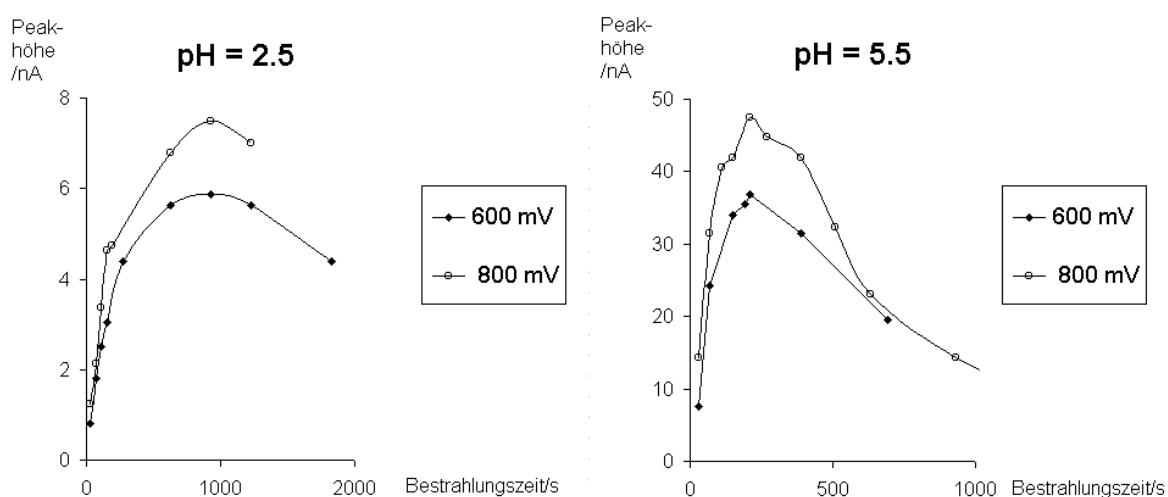


Abbildung 90: Fließinjektionsanalyse: Abhängigkeit der Peakhöhen der ECD der bestrahlten PABA Lösung von der Bestrahlungszeit bei verschiedenen pH -Werten und angelegten Polarisationsspannungen

Die Erhöhung der Signale bei steigendem pH -Wert konnten einerseits auf die pH -Abhängigkeit der Photoreaktion (siehe Kapitel 3.3.11. und 3.3.12.) zurückgeführt werden, andererseits ist auch die amperometrische Detektion pH -abhängig. Zu kurze Bestrahlungszeiten führten zu geringeren Umsätzen, während zu lange Bestrahlungszeiten zum photochemischen Abbau der Photoprodukte führten und damit die Signale wieder abnahmen. In der Regel sollte der Parameter pH -Wert bei der ECD experimentell optimiert werden, da Vorhersagen nicht immer treffend sind, wobei die nicht protonierte Form der elektroaktiven Substanz wegen der höheren Elektronendichte aber leichter oxidierbar sein sollte [109].

Ein Zusatz von Methanol oder Acetonitril führte zu vergleichbaren Ergebnissen, so daß ein Einfluß der *Zusammensetzung der mobilen Phase* auf die photochemische Reaktion oder die amperometrische Detektion nicht erkannt werden konnte.

Die Untersuchung des Einfluß der *Temperatur* auf die Signalhöhe wurde im HPLC-System durchgeführt, wobei die Bestrahlung nach der chromatographischen Trennung erfolgte und die - mit oder ohne Einsatz der Kühlung - erhaltenen Signale verglichen wurden (Tabelle 32).

Tabelle 32: Einfluß der Temperatur: Verhältnisse der Peakhöhen in % ($\text{Peakhöhe}_{\text{ohne Kühlung}} / \text{Peakhöhe}_{\text{mit Kühlung}} \cdot 100$) bei der Bestrahlung der PABA und PAABA nach der Trennsäule bei einem Arbeitspotential von +1200 mV

Konzentration [$\mu\text{mol/L}$]	PABA Peakhöhe %	PAABA Peakhöhe %
18,48	93	140
12,32	95	146
9,24	91	135
6,17	93	149
3,08	89	139

Die Temperatur beeinflusste neben der Peakform (siehe Kapitel 3.2.2.3.4. und 3.3.1.1.) und der Strahlungsintensität (siehe Kapitel 3.2.3.2.4.) auch die amperometrische Detektion, so daß mehrere Einflußfaktoren berücksichtigt werden mußten. Ein Erwärmen der Kapillare führte nicht zu amperometrisch detektierbaren Signale für die PAABA, wie dies auch bei der Bestrahlung vor der Trennsäule der Fall war (siehe Kapitel 3.3.12.).

Primär zu berücksichtigen war die Erhöhung der Strahlungsintensität und der damit verbundene stärkere Abbau der Ausgangsverbindungen. Analog den Ergebnissen der FIA war die Abnahme der Signale der PABA und die Zunahme der PAABA bei einem Arbeitspotential von +1200 mV bei erhöhter Einstrahlungsintensität zu erwarten, wobei gleichzeitig eine durch die thermische Peakverformung bedingte Erhöhung der Signale eintreten sollte. Da die Signale der PABA bei den angelegten Arbeitspotentialen von +1200 mV sowohl auf die Photoprodukte als auch auf die Ausgangsverbindung zurückzuführen ist, war der Temperatureinfluß geringer als bei der PAABA. Bei der PAABA wurden nur die Photoprodukte erfaßt, eine Überlagerung mit den Signalen der z.T. abgebauten, aber dennoch vorhandenen Ausgangsverbindung erfolgte nicht, so daß der Einfluß der Temperatur und damit der Strahlungsintensität bei der PAABA eine größere Rolle zukam als bei der PABA.

3.4.1.2 Linearität

Da unter HPLC Bedingungen (RP-18) eine Peaktrennung zwischen PABA und PAABA bei höheren pH-Werten nicht erzielt werden konnte, wurde als Fließmittel Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH 3,5 (85/15) eingesetzt, obwohl für die photochemische Reaktion bzw. für die amperometrische Detektion ein höherer pH-Wert in Hinblick auf die Empfindlichkeit günstiger wäre. Der Photoreaktor wurde ohne Kühlung betrieben, um die Intensitäts-erhöhung der Signale durch Temperaturanstieg zu nutzen.

Die Linearität zwischen Detektorsignal und Aufgabemasse wurde im Konzentrationsbereich von 1 - 1000 µmol/L untersucht. Sie ist neben der Gleichheit der Varianzen (Homoskedastizität), der Normalverteilung der Werte und der Fehlerfreiheit der unabhängigen Variable x Voraussetzung für eine lineare Regressionsanalyse.

Amperometrische Detektion:

Die Empfindlichkeiten nahmen mit steigender Konzentration ab, dargestellt in Abbildung 91. Dieser Effekt zeigte sich sowohl mit als auch ohne Bestrahlung nach der chromatographischen Trennung, so daß der nicht lineare Zusammenhang zwischen Signal und Aufgabemasse nicht nur auf die photochemische Reaktion zurückzuführen war.

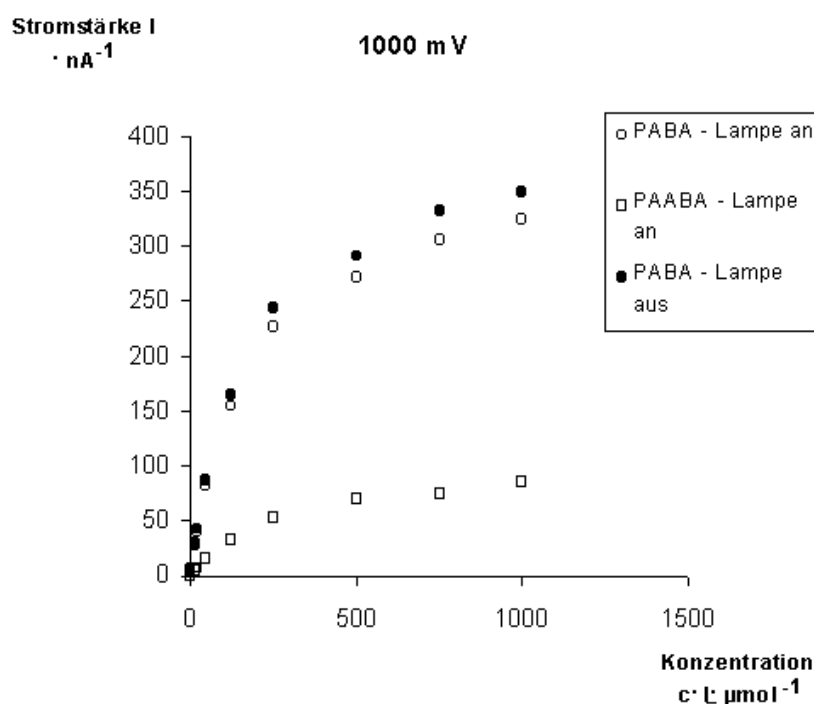


Abbildung 91: Darstellung der Mittelwerte ($n = 3$) der Peakhöhen der Signale der ECD der PABA und PAABA in Abhängigkeit von der Konzentration mit und ohne Bestrahlung nach der chromatographischen Trennung bei einer angelegten Polarisationsspannung von +1000 mV. Fließmittel: Acetonitril /Acetat-Pufferlösung pH 3,5 (85/15)

Die Abweichungen von der Linearität bei der amperometrischen Detektion konnten auf Veränderungen an der Elektrodenoberfläche zurückgeführt werden (siehe Kapitel 3.3.5.1.2.). Neben den Adsorptionen der Edukte oder Produkte sind vor allem Filmbildungen von Bedeutung, wobei in der Regel versucht wird die "Passivierung" der Elektrode durch geringe Aufgabemassen zu vermeiden. Bei den durchgeführten Versuchen zeigte sich, daß der entscheidende Parameter weniger die Aufgabemasse, sondern die Intensität der erhaltenen Stromantwort war. Ab einer Antwort von ca. 20 - 30 nA nahmen die Empfindlichkeiten über 10 % ab (siehe Anhang 17 und Tabelle 33, Versuchsdurchführung: Kapitel 4.5.2.2.). Da Filmbildungen durch die an der Oberfläche gebildeten "aktiven" Verbindungen, wie Radikale hervorgerufen werden können, wäre in diesem Falle nicht die Konzentration der zu detektierenden Substanz ausschlaggebend, sondern die Konzentration an reaktionsfähigen Verbindungen an der Elektrodenoberfläche. Die Stromantwort konnte hierbei als Maß angesehen werden. Um in linearen Bereichen arbeiten zu können, war die Herabsetzung des Arbeitspotentials somit von Vorteil, wobei aber die Empfindlichkeit geringer wurde.

Tabelle 33: Peakhöhen der PABA und PAABA bei Bestrahlung nach der Trennsäule (RP-18) bei verschiedenen Konzentrationen und Arbeitspotentialen.

Fett: Abnahme der Empfindlichkeiten auf unter 90% des vorangegangenen Wertes.

Konzentration [µmol/L]	Peakhöhe/nA 600 mV		Peakhöhe/nA 800 mV		Peakhöhe/nA 1000 mV	
	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA
1000	48,08	36,40	102,30	66,30	300,10	84,20
	47,70	35,50	101,50	63,50	291,60	86,00
	46,60	34,00	100,50	64,10	288,05	85,00
750	42,00	33,50	94,20	60,80	279,90	77,00
	39,00	30,80	96,80	58,90	273,60	73,40
	41,50	31,50	93,50	57,80	273,60	75,20
500	36,20	27,50	80,50	55,70	251,55	69,80
	35,30	27,10	85,60	52,30	243,63	69,20
	36,50	27,80	82,30	54,00	241,02	67,40
250	30,80	20,60	57,30	44,10	209,52	54,10
	31,84	21,10	56,20	42,60	203,49	54,40
	33,60	21,50	54,10	43,50	202,95	52,40
125	24,96	13,80	43,00	28,20	142,74	31,60
	23,92	13,50	42,00	28,50	138,87	30,60
	24,40	13,60	41,25	28,10	137,34	31,80
62,5	16,50	7,20	34,10	16,10	91,71	20,00
	17,10	7,30	33,90	15,80	88,2	20,10
	16,80	7,10	32,50	15,50	85,41	20,10
46,88	13,20	4,82	28,90	11,90	75,915	16,35
	13,70	4,95	27,80	12,20	74,088	16,40
	13,50	5,00	27,50	12,10	72,576	15,90
35,26	10,75	3,50	22,80	8,45	60,23	13,80
	10,75	3,90	22,20	8,60	58,50	13,20
	10,50	3,95	22,30	8,50	58,28	13,10
20,0	6,45	2,25	14,70	5,40	41,20	8,20
	6,00	2,35	15,10	4,80	40,40	7,60
	6,20	2,30	14,80	5,10	41,50	7,75

Fortsetzung Tabelle 33:

Konzentration [μmol/L]	Peakhöhe/nA 600 mV		Peakhöhe/nA 800 mV		Peakhöhe/nA 1000 mV	
	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA
14,06	4,70	1,60	10,30	3,40	28,90	5,20
	4,35	1,70	10,50	3,50	28,40	5,10
	4,60	1,55	10,20	3,70	27,40	5,00
7,03	2,20	0,82	5,40	2,30	17,50	2,55
	2,05	0,78	5,60	1,90	17,20	2,45
	2,08	0,78	5,60	1,80	16,80	2,50
1,76	0,55	0,20	1,50	0,70	7,25	0,75
	0,58	0,19	1,40	0,80	6,55	0,80
	0,55	0,18	1,50	0,70	6,85	0,65
1	0,35	0,10	0,80	0,45	3,20	0,45
	0,40	0,15	0,75	0,40	3,30	0,55
	0,45	0,10	0,80	0,42	3,30	0,45
0,488	0,18	0,05	0,35		1,55	
	0,21	0,04	0,40		1,40	
	0,18	0,02	0,35		1,40	
0,244	0,10				0,80	
	0,14				0,70	
	0,08				0,65	

UV-Detektion:

Mittels der UV-Detektion wurde zusätzlich der Einfluß des photochemischen Reaktors auf die Peakverbreiterung und damit auch der Empfindlichkeit, sowie der Einfluß der Bestrahlung untersucht.

Im Gegensatz zur amperometrischen Detektion ergab die graphische Darstellung der Peakhöhen zur Konzentration keine „Sättigungskurve“ entsprechend der ECD (Werte siehe Anhang 18)

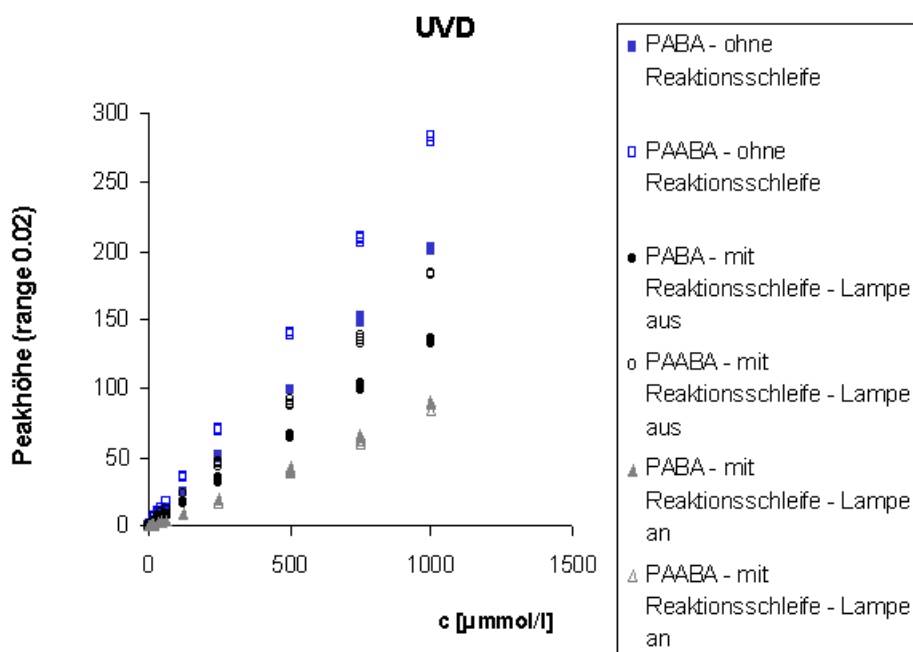


Abbildung 92: Graphische Darstellung der Peakhöhen der UVD der PABA und PAABA mit und ohne Reaktionsschleife; mit und ohne Bestrahlung nach der Trennsäule.

Ermittelt man die Verhältnisse der Peakhöhen (mit Reaktor / ohne Reaktor), berechnet aus Mittelwerten ($n = 3$), so ergibt sich kein Trend in Bezug auf die eingesetzten Konzentrationen ($n = 13$, $1000 - 1 \mu\text{M}$). Die Verhältnisse können als Dispersionskoeffizienten des Photoreaktors begriffen werden und waren unabhängig von der eingesetzten Verbindung (PABA oder PAABA). Die Peakverbreiterung ist erwartungsgemäß unabhängig von der eingesetzten Konzentration.

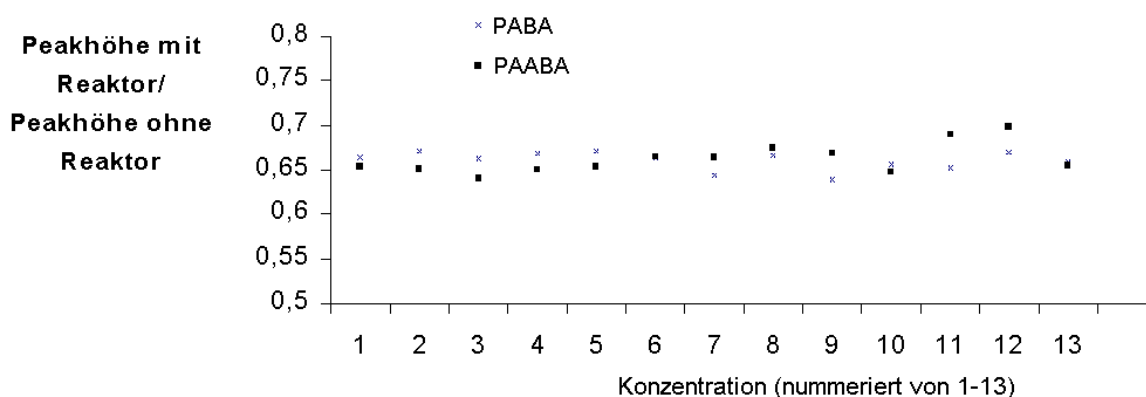


Abbildung 93: Verhältnisse der Peakhöhen der PABA und PAABA in Abhängigkeit von der Konzentration 1-13 (entspricht $1000 - 1 \mu\text{M}$); ⁷

⁷ die Nummerierung erfolgte aufgrund der übersichtlicheren Darstellung im Vergleich zur Auftragung gegen den absoluten Wert der Konzentration.

Dieser Effekt ist zudem notwendige Voraussetzung für den Einsatz von photochemischen Durchfluß-Photoreaktoren nach der Trennsäule für die quantitative Bestimmung von Substanzen.

Nach Bestrahlung ergab die Berechnung der Empfindlichkeiten Hinweise auf Trends. Mit zunehmender Konzentration nahmen die Empfindlichkeiten zu, d.h. der photochemische Abbau war – prozentual – bei höheren Konzentrationen geringer.

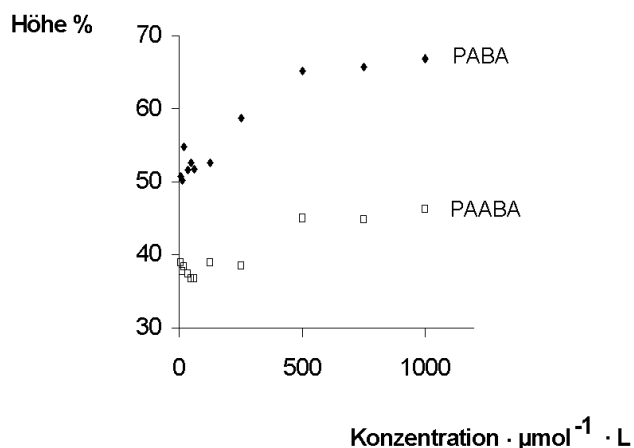


Abbildung 94: Photochemischer Abbau: Peakhöhen % ($\text{Höhe}_{\text{nach Bestrahlung}} / \text{Höhe}_{\text{vor Bestrahlung}} \cdot 100$).

Bei der eingesetzten Konzentration von 1 mM konnte eine formale Berechnung der Absorption durch:

$$A_{254 \text{ nm}} = \varepsilon_{254 \text{ nm}} \cdot [A] \cdot d_{\text{mittel}} = 9730 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot 0,020 \text{ cm} = 0,2$$

erfolgen. Sobald eine geringe Absorption nicht gewährleistet ist, kann die photochemische Reaktion nicht mehr durch eine Gleichung nach Reaktionsbedingungen 1. Ordnung beschrieben werden. Die Konzentrationsabhängigkeit der Reaktionsordnung der photochemischen Degradation zeigte sich bereits im FIA-System (siehe Kapitel 3.3.5.1.). In höheren Konzentrationsbereichen muß die Eignung des Reaktors für die quantitative Bestimmung dementsprechend besonders überprüft werden. Falls der prozentuale photochemische Abbau nicht unabhängig von der eingesetzten Konzentration ist, kommt es zu Abweichungen von der Linearität zwischen Detektorsignal und Konzentration.

3.4.1.3 Nachweisgrenze

Die Definitionen der Nachweisgrenze sind in der Literatur uneinheitlich. Sie kann als niedrigste Konzentration des Analyten begriffen werden, die unter den angegebenen experimentellen Bedingungen nicht notwendigerweise quantifiziert, aber detektiert werden kann [134]. Dabei kann die Nachweisgrenze als Stoffmenge, bzw. Konzentration aufgefaßt werden, die sich aus der Erkennungsgrenze über die Kalibrierfunktion ergibt. Die Erkennungsgrenze wird dabei als das kleinste signifikant vom Blindwert unterscheidbares Signal definiert [101].

Nach der ICH Richtlinie "Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures" kann die Bestimmung auf vielfältige Weise erfolgen und auf

- a) der visuellen Bewertung
- b) dem Signal-Rausch-Verhältnis
- c) der Standardabweichung des Signals bzw. der Leermatrix
- d) der Kalibrierfunktion

beruhen [135]. Nach den Eurachem-Richtlinien (GDCh-Geschäftsstelle) [136] wird es als ausreichend erachtet den "Leerwert (Blindwert) + 3 x Standardabweichung" zu berechnen, um Hinweise darauf zu bekommen ab wann die Detektion problematisch wird. Oftmals wird "2 bis 3 x Rauschen" als ausreichend erachtet [137].

Im Folgenden waren vor allem vergleichende Betrachtungen der verschiedenen Bedingungen (siehe Tabelle 34) von Interesse. Es wurden die gemessenen Signale von Proben niedriger Konzentration mit Leerproben (Injektion des Fließmittels) verglichen, wobei für die Bestimmung ein Signal-Rausch-Verhältnis von 3:1 genutzt wurde.

Tabelle 34: Nachweisgrenzen der PABA und PAABA bei verschiedenen Bedingungen

	UVD ohne Photo- reaktor		UVD Lampe aus		UVD Lampe an		ECD +600 mV Lampe an		ECD +800 mV Lampe an		ECD +1000 mV Lampe an	
	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>c</i>	<i>m</i>
	[µM]	[ng]	[µM]	[ng]	[µM]	[ng]	[µM]	[ng]	[µM]	[ng]	[µM]	[ng]
PABA	0,12	0,34	0,5	1,4	1,0	2,8	0,24	0,67	0,5	1,4	0,24	0,67
PAABA	0,12	0,44	0,5	1,9	1,0	3,7	0,50	1,74	1,0	3,6	1,0	3,63

Die Nachweisgrenzen der UVD waren aufgrund der hohen Absorptionen der Substanzen - eine Voraussetzung für den Einsatz von PABA als UV-Filter - niedriger bzw. vergleichbar

mit den Nachweisgrenzen der ECD. Bei der UVD erhöhte der Einsatz des Reaktors die Nachweisgrenze, zum einen bedingt durch die Peakverbreiterung infolge der Dispersion in der Reaktionsschleife, zum anderen aufgrund des photochemischen Abbaus der Substanzen. Bei der ECD waren aufgrund der Erniedrigung des Rauschens bei niedrigeren Arbeitspotentialen trotz abnehmender Empfindlichkeit die Nachweisgrenzen z.T. geringer als bei höheren Arbeitspotentialen.

3.4.1.4 Selektivität

Eine Methode ist selektiv, wenn die zu bestimmende Komponente unabhängig von allen vorhandenen Begleitstoffen bestimmbar ist [133]. Die amperometrische Detektion ist selektiv für Substanzen, die elektrochemisch oxidierbar bzw. reduzierbar sind. Obwohl viele Substanzen mittels der UVD zu erfassen sind, ist die ECD bei einem leicht zugänglichen Arbeitspotential meist nicht möglich. Der Einsatz eines photochemischen Reaktors kann die Selektivität durch einfache Lampe ein/ Lampe aus - Vergleiche erhöhen, wenn die Photoprodukte im Vergleich zur Ausgangsverbindung ein anderes elektrochemisches Verhalten aufzeigen. Bei einem Potential von +600 mV waren weder die PABA noch die PAABA amperometrisch zu detektieren, wohingegen bei höheren Potentialen die PABA zu erfassen war.

Bei der Validierung von analytischen Verfahren kann der Einsatz eines photochemischen Reaktors damit einen wertvollen Beitrag leisten. Die Selektivität kann durch einfachen Lampe aus/Lampe an - Vergleich erhöht werden, da neben der Retentionszeit die Peakzuordnung auf der Fähigkeit *nur nach Bestrahlung* amperometrisch detektierbar zu sein beruht. Injiziert wurden Lösungen der PABA und PAABA, die im Gegensatz zu vorangegangenen Versuchen nicht durch Lösen in der mobilen Phase hergestellt wurden, sondern durch Lösen in einer Leermatrixprobe, bestehend aus:

90% Acetonitril/Puffer pH = 3,5 (85/15) (v/v)

10% Inkubationsansatz

(bestehend aus Hämolytat, Acetyl-CoA-regenerierendes System, Acetyl-Coenzym A, Perchlorsäure)

Ohne Bestrahlung erschienen keine Peaks im Chromatogramm, wohingegen UV-Bestrahlung zu auswertbaren Peaks führte (Abbildung 95). Bestrahlung der Leermatrix hingegen lieferte keine zusätzlichen Signale, was die Störung durch andere Substanzen minimierte. Der Lampe aus/Lampe an - Vergleich verringert somit die Wahrscheinlichkeit, daß gleichzeitig mit der relevanten Substanz zusätzliche Verbindungen eluiert werden und sind ein Hinweis auf Peakreinheit.

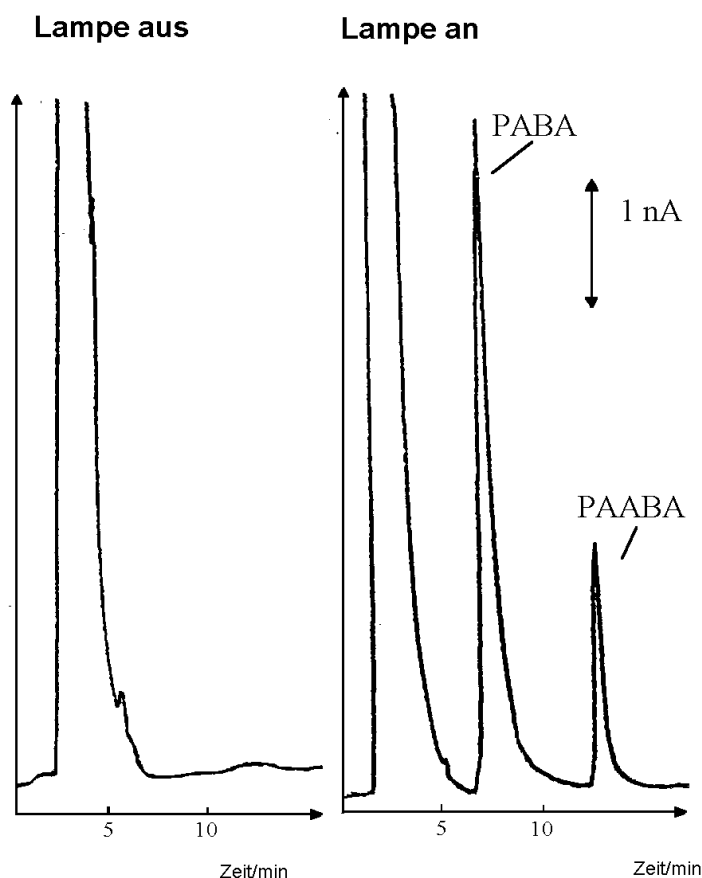


Abbildung 95: Chromatogramme einer Mischung aus PABA und PAABA, gelöst in der mobilen Phase mit 10% Matrix-Lösung. Konzentration 20 $\mu\text{mol/L}$ (PABA und PAABA). Flußrate: 0,5 mL/min. Arbeitspotential: +600 mV. Mobile Phase: Acetonitril - Acetat-Pufferlösung pH = 3,5 (15:85) (v/v). Links: Lampe aus; Rechts: Lampe an

3.4.2 Kalibrierung

Die quantitative Bestimmung mittels ECD gestaltete sich aufgrund des nicht linearen Zusammenhangs zwischen Aufgabemasse und Detektorsignal bei höheren Konzentrationen problematisch. Eine mathematisch nicht lineare Kurvenanpassung wäre prinzipiell möglich, wobei in diesem Falle die Reihenfolge der Injektionen der verschiedenen Konzentrationen einen entscheidenden Einfluß auf die Kalibrierfunktion hätte. Injektionen von höheren Konzentrationen führten zur Abnahme der Peakhöhen der Signale nachfolgender Lösungen mit niedrigerer Konzentration, wohingegen dieser Effekt bei niedrigeren Konzentrationen zu vernachlässigen war.

Bei einem angelegten Arbeitspotential von +600 mV waren die Empfindlichkeiten über einen weiteren Konzentrationsbereich vergleichbar (siehe Anhang 17), so daß eine Kalibrierung durch lineare Regression hier trotz niedriger Empfindlichkeit sinnvoll

erschien. Die Kalibrierung erfolgte bei fünf Konzentrationen ($c = 35,6; 21,4; 14,3; 7,15; 1,79 \mu\text{mol/L}$) an drei verschiedenen Tagen mittels UVD (Detektionswellenlänge $\lambda = 270 \text{ nm}$) und mittels ECD (Arbeitspotential: $+ 600 \text{ mV}$) durchgeführt. Am vierten Tag erfolgte eine Kalibrierung nach Zusatz von Matrix-Lösung.

3.4.2.1 Prüfung der Voraussetzungen zur Anwendung der linearen Regression

3.4.2.1.1 Fehlerfreiheit der Variablen x

Neben der Herstellung der Kalibrierlösungen, inklusive Einwiegen der Substanzen, Auffüllen und Verdünnen, ist auch die Injektion der Lösung ein fehlerbehafteter Vorgang. Für die Kalibrierung wurden diese Fehler in x, aufgrund der im Verhältnis entscheidenden Fehler in y, formell als fehlerlos betrachtet.

3.4.2.1.2 Linearität

Die Linearität wurde an Hand der graphischen Darstellung der Peakhöhen und der Empfindlichkeiten in Abhängigkeit von der Konzentration untersucht. Es ergaben sich keine Hinweise für eine nichtlineare Abhängigkeit von Konzentration und Signal (Abbildung 96).

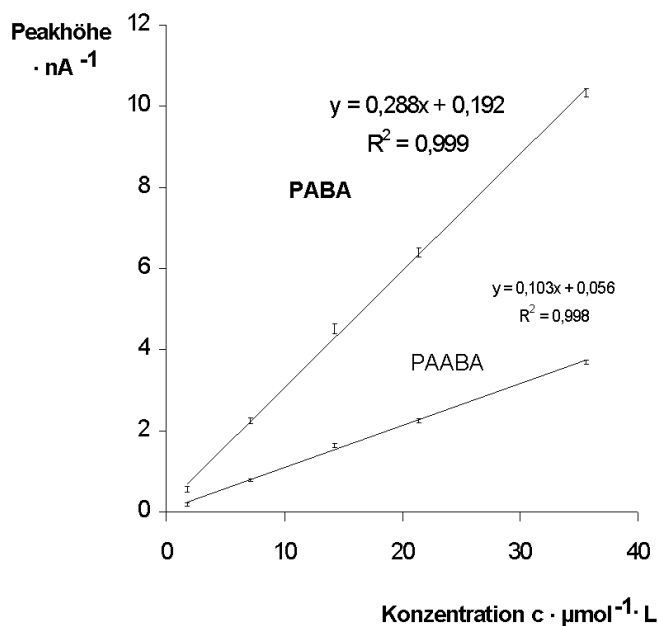


Abbildung 96: Amperometrische Detektion ($U_{\text{pol}} = +600 \text{ mV}$) der PABA und PAABA nach chromatographischer Trennung und Bestrahlung: Darstellung der Peakhöhen (Mittelwerte, $n = 6$) der Kalibriergeraden (Tag 1), Versuchsdurchführung: Kapitel 4.5.2.4.

3.4.2.1.3 Normalverteilung

Zur Prüfung auf Normalverteilung wurde der Test nach David auf dem 10 % Niveau (siehe auch Kapitel 3.2.2.3.2.) durchgeführt. Die Werte waren in der Regel normalverteilt (Tabelle 35), geringe Abweichungen von der Normalverteilung können zudem vernachlässigt werden [100].

Tabelle 35: Test nach David ($n = 6$),
+ entspricht; - entspricht nicht

PABA

Konzentration [μM/L]	TAG 1 ECD	TAG 1 UVD	TAG 2 ECD	TAG 2 UVD	TAG 3 ECD	TAG 3 UVD	TAG 4 ECD	TAG 4 UVD
35,6	+	+	+	+	-	+	+	-
21,4	+	+	+	+	+	+	-	+
14,3	+	+	+	+	+	+	+	+
7,15	-	+	-	-	+	+	+	+
1,79	+	-	+	-	+	+	+	+

PAABA

Konzentration [μM/L]	TAG 1 ECD	TAG 1 UVD	TAG 2 ECD	TAG 2 UVD	TAG 3 ECD	TAG 3 UVD	TAG 4 ECD	TAG 4 UVD
35,6	+	+	+	+	+	+	+	+
21,4	-	+	+	+	+	-	-	+
14,3	+	+	+	+	+	+	+	+
7,15	+	+	+	+	-	+	+	+
1,79	+	+	+	+	-	+	+	+

3.4.2.1.4 Varianzenhomogenität

Die Prüfung auf Gleichheit der Varianzen erfolgte mittels F -Test ($P = 0,9$, $f_1 = 5$, $f_2 = 5$) und dem Test nach Cochran (siehe auch Kapitel 3.2.2.3.2.). Die Varianzen unterschieden sich sowohl bei UVD als auch bei ECD in der Regel nicht signifikant (Tabelle 36). Die Homoskedastizität wurde daher angenommen.

Tabelle 36: *F*-Test ($P = 0,9$, $f_1 = 5$, $f_2 = 5$) und Test nach Cochran ($n = 6$), untere + entspricht; - entspricht nicht

PABA

	TAG 1	TAG 2	TAG 3	TAG 4
<i>F</i> -Test - ECD	+	+	-	+
<i>F</i> -Test - UVD	+	-	+	+
Test nach Cochran -ECD	+	+	+	+
Test nach Cochran -UVD	+	+	+	+

PAABA

	TAG 1	TAG 2	TAG 3	TAG 4
<i>F</i> -Test - ECD	+	+	+	-
<i>F</i> -Test - UVD	+	+	+	+
Test nach Cochran -ECD	+	+	+	+
Test nach Cochran -UVD	+	+	+	+

3.4.2.2 Lineare Regression

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse sind im Folgenden zusammengefaßt.

Tabelle 37: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse - Werte: Anhang 19 und 20

PABA	Steigung m [1/($\mu\text{mol/l}$)]	sdv (m) [1/($\mu\text{mol/l}$)]	Achsen- abschnitt b	sdv (b)	Korre- lations- koeffizient R^2	Standard - fehler des Schätzwertes y sdv (y)
TAG 1	0,2877	0,0024	0,1919	0,0475	0,998	0,1543
TAG 1 UVD	0,0688	0,0002	0,0103	0,0042	1,000	0,0137
TAG 2	0,2884	0,0020	0,0177	0,0397	0,997	0,1289
TAG 2 UVD	0,0663	0,0003	0,0044	0,0057	1,000	0,0185
TAG 3	0,2480	0,0023	0,0371	0,0453	0,998	0,1471
TAG 3 UVD	0,0657	0,0006	0,0537	0,0120	0,998	0,0390
TAG 4 *)	0,2210	0,0017	0,0581	0,0340	0,998	0,1106
TAG 4 *) UVD	0,0657	0,0055	0,0104	0,0109	0,998	0,0355

Fortsetzung von Tabelle 37

PAABA	Steigung m [1/($\mu\text{mol/l}$)]	sdv (m) [1/($\mu\text{mol/l}$)]	Achsen- abschnitt b	sdv (b)	Korre- lations- koeffizient R^2	Standard - fehler des Schätzwertes y sdv (y)
TAG 1	0,1031	0,0012	0,0561	0,0229	0,997	0,0743
TAG 1 UVD	0,0653	0,0003	0,0036	0,0064	0,999	0,0208
TAG 2	0,1052	0,0009	-0,0035	0,0189	0,998	0,0613
TAG 2 UVD	0,0645	0,0003	0,00843	0,0061	0,999	0,0198
TAG 3	0,0943	0,0012	-0,0015	0,0236	0,996	0,0765
TAG 3 UVD	0,0604	0,0007	0,02485	0,01328	0,997	0,0431
TAG 4 *)	0,0766	0,0009	0,0567	0,0180	0,996	0,0586
TAG 4 *) UVD	0,0640	0,0004	-0,0119	0,0767	0,999	0,0249

Die Werte der Peakhöhen der ECD unterschieden sich sowohl für die PABA als auch für die PAABA von Tag zu Tag signifikant. Die Steigungen der Geraden nahmen am 3. und 4. Tag ab, während dies für die UVD nicht der Fall war. Um zu quantifizieren, bedarf es bei der ECD daher einer täglich neuen Kalibrierung. Die geringere Reproduzierbarkeit war, da damit eine abnehmende Empfindlichkeit einher ging, wohl auch auf Veränderungen der Oberfläche der Arbeitselektrode zurückzuführen und stellt ein allgemeines Problem bei quantitativen Bestimmungen mittels amperometrischer Detektion dar [117,138]. Auch die Standardabweichungen der Meßwerte lagen bei der UVD in der Regel jeweils unter den Werten der ECD, wobei die geringere Präzision der Meßwerte der ECD ebenfalls auf Veränderungen der Oberfläche der Arbeitselektrode zurückgeführt werden konnten.

Tabelle 38: relative Standardabweichungen der ECD und UVD der PABA

Konz. [$\mu\text{mol/L}$]	Vergleichs- bedingungen Tag 1 (n = 6)		Vergleichs- bedingungen Tag 1 (n = 6)		Vergleichs- bedingungen Tag 1 (n = 6)		Wiederhol- bedingungen Tag 1,2 und 3 (n = 18)	
	UVD	ECD	UVD	ECD	UVD	ECD	UVD	ECD
35,6	0,67	0,95	1,03	0,79	1,22	1,32	2,12	7,05
21,4	0,79	1,67	0,73	1,69	1,94	1,86	1,93	8,59
14,3	1,37	2,84	2,23	2,74	2,77	2,10	3,79	7,36
7,15	3,70	3,28	3,65	3,57	3,56	2,92	5,40	10,34
1,79	6,88	10,00	6,72	13,58	12,17	7,24	9,84	14,97

Zusammenfassend läßt sich daher sagen, daß die amperometrische Detektion in Verbindung mit der photochemischen Umsetzung der Substanzen, für die Methodenentwicklung wertvolle zusätzliche Hinweise liefern kann. Für die Routineanalytik sollte aber in diesem Fall der UVD Vorrang eingeräumt werden.

4 EXPERIMENTELLER TEIL

4.1 Materialien und Geräte

4.1.1 Chemikalien

4-Acetamidobenzoessäure:	Lancaster Synthesis GmbH, Mülheim
Acetonitril:	HPLC ultra gradient grade; Mallinckrodt Baker, Griesheim
Acetyl-Coenzym A:	Universitätsklinikum medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin
Acetyl-CoA-regenerierendes System:	Siehe Acetyl-Coenzym A
4-Aminophenol:	z.A.; Merck KGaA, Darmstadt
4-Aminosalicylsäure:	Lancaster Synthesis GmbH, Mülheim
Diphenylamin:	Riedel-de Haën Laboratory Chemicals, Seelze
EDTA:	Riedel-de Haën Laboratory Chemicals, Seelze
Eisen(II)sulfat:	z.A.; Riedel-de Haën Laboratory Chemicals, Seelze
Eisen(III)sulfat:	z.A.; Riedel-de Haën Laboratory Chemicals, Seelze
Glycin:	p.A.; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Hämolytat:	Siehe Acetyl-Coenzym A
Kaliumchlorid:	z.A., Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Kaliumdichromat:	reinst, Laborchemie Apolda
Kaliumoxalat:	Lancaster Synthesis GmbH, Mülheim
Methanol:	HPLC ultra gradient grade; Mallinckrodt Baker, Griesheim
	Lichrosolv; Merck KGaA, Darmstadt
1,10-Phenanthrolin:	z.A.; Ferak Laborat GmbH, Buchs
Natriumacetat:	rein; Ferak Laborat GmbH, Buchs
Natriumdihydrogenphosphat:	z.A.; Merck KGaA, Darmstadt
Natriummonohydrogenphosphat:	z.A.; Laborchemie GmbH, Apolda
Perchlorsäure:	z.A.; Riedel-de Haën Laboratory Chemicals, Seelze
Salicylsäure:	Caelo und Lorentz GmbH, Hilden
Salzsäure:	30% z.A.; Merck KGaA, Darmstadt

Schwefelsäure: 95-98% reinst; Merck KGaA, Darmstadt
 Silberchlorid: rein; Feinchemie GmbH, Sebitz
 Wasser: Reinstwasseranlage

4.1.2 Untersuchte UV-Filter

Tabelle 39: Untersuchte UV-Filter inkl. INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients) - Bezeichnung, Handelsname und Hersteller

Chemischer Lichtschutzfilter	INCI - Bezeichnung	Handelsname und Hersteller
4-Aminobenzoesäure	PABA	PABA (Merck)
4-Bis(polyethoxy)aminobenzoesäure-polyethoxyethylester	PEG 25-PABAethylester	Uvinul P25 (BASF)
1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion	Butyl-methoxy-dibenzoyl-methan	Eusolex 9020 (Merck)
2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure-2-ethyl-hexylester(Octocrilen)	Octocrylene	Uvinul N539 (BASF)
2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon (Oxybenzonum)	Benzophenone-3	Eusolex 4360 (Merck)
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure (Sulisobenzonum)	Benzophenone-4	Uvinul MS-40 (BASF)
3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on	Methyl-benzylidene-Camphor	Eusolex 6300 (Merck)
4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester	Octyl-methoxy-cinnamate	Eusolex 2292 (Merck)
2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure	Phenyl-benzimidazole Sulphonic Acid	Eusolex 232 (Merck)
3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat (Homosalatum)	Homosalate	Homomenthyl-salicylat (Merck)

4.1.3 Geräte und Arbeitsbedingungen

4.1.3.1 Photochemische Durchfluß-Reaktoren

A) Beam Boost, Firma ICT, Frankfurt

Reaktionsschleifen:

IC89501-1 Standardreaktionsschleife; Länge $l = 5$ m ; Innendurchmesser $ID = 0,3$ mm

IC89501-2 Standardreaktionsschleife; Länge $l = 5$ m ; Innendurchmesser $ID = 0,3$ mm

IC89501-3 Standardreaktionsschleife; Länge $l = 5$ m ; Innendurchmesser $ID = 0,3$ mm

IC89601 Hochdruck-Reaktionsschleife; Länge $l = 5$ m ; Innendurchmesser $ID = 0,3$ mm

Strahler:

IC89511 254 nm UV-Lampe

IC89512 366 nm UV-Lampe

B) Eigene Konstruktion

Aluminiumröhre: Durchmesser $d = 12$ cm mit zwei Durchlaß-Öffnungen

Kunststoffaufsätze: Baumarkt

Ventilator: Papst-Motoren Typ 4650 N Durchmesser $d = 12$ cm

Thermofühler: Digital-Präzisions-Taschenthermometer, GTH175/MO, Conrad Electronics

Reaktionsschleifen:

Die Reaktionsschleifen wurden mittels einer Häkelnadel aus PTFE und ETFE (Ethyltetrafluorethylen)-Schläuchen in „Festen Maschen“ gehäkelt:

PTFE (Upchurch Scientific; $ID = 0,010''$ (0,254 mm); Länge l variabel)

ETFE (Upchurch Scientific; $ID = 0,010''$ (0,254 mm); Länge l variabel).⁸

Die Reaktionsschleifen aus Quarz wurden mittels eines Trägersystems positioniert:

Quarzkapillaren unbeschichtet (Fused Silica Kapillarsäule, Machery Nagel;

$ID = 0,32$ mm, Art. Nr. 723151.10; Länge $l = 10$ m bzw. variabel)

Strahler:

Eingesetzt wurden sowohl Quecksilber-Niederdruckstrahler (UV-C, UV-B, UV-A) als auch Hochdruckstrahler.

⁸ Die Angaben des Innendurchmessers entsprechen Herstellerangaben.

Tabelle 40: Technische Daten der verwendeten Strahler

Lampentyp	Herstellerbezeichnung	Haupt-emission	Leistung	Länge	Durch-messer
UV-C-Strahler	Philips TUV 8W (G8 T 5)	253,7 nm	8 W	29 cm	16 mm
UV-B-Strahler	Philips TL 4W/12	280-350 nm	4 W	14 cm	16 mm
UV-A-Strahler	Philips TL 8W/05	320-480 nm	8 W	29 cm	16 mm
Hg-Hochdruck-strahler	Philips HPK 125 W BA 15 D Typ 57203 B100	UV-vis	125 W	3 cm	1.5 cm

4.1.3.2 UV-Spektroskopie

Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC, inkl. Thermostat

4.1.3.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

1. Merck Hitachi - HPLC Anlage A

D-7000 HPLC System Manager

L-6200 A Intelligent Pump

D-6000 Interface

L-4500 Diode-Array Detector

Merck Licrospher 100 RP-18 Säule

Perkin Elmer LS 50 B Luminescence Spectrometer

Supelco Rheodyne 7125 mit 20 µL Injektionsschleife

2. HPLC-Anlage B

Bischoff HPLC-Pumpe

Supelco Rheodyne 8125, Injektionsvolumen 5 und 20 µL

Merck Licrospher 100 RP-18 Säule

Detektoren:

- ☐ UV-Detektor GAT UVD 500 (2 Modelle)
- ☐ TOA Amperometric Detector Modell ICA-3060
- ☐ Metrohm 641 VA-Detektor mit elektrochemischer Durchflußzelle 656
(Arbeitselektrode: Glassy Carbon, Bezugselektrode: Ag/AgCl/c(KCl) = 3 mol/L)

(In der Regel erfolgte nach der UV-Detektion die amperometrische Detektion, Ausnahmen sind bei den folgenden Versuchsbeschreibungen angegeben.)

Datenaufnahme durch KDAC 500/I Data Acquisition and Control Software; Keithley Instruments, Inc.

Auswertung der Daten:

- ☐ KDAC 500/I (Basic-Programm)
- ☐ windows microsoft excel 97
- ☐ ORIGIN windows microcalTM software

4.2 Bestimmung der Bestrahlungszeiten

Geräteparameter: HPLC-Anlage B

Probe: Aktinometer-Lösung ($4 \cdot 10^{-3}$ mol/L)

Die praktische Ermittlung der Bestrahlungszeiten erfolgte durch Injektion einer Aktinometer-Lösung in das FIA-System mit und ohne Integration der Reaktionsschleifen. Ausgewertet wurden die durch elektronische Datenaufnahme unter Variation verschiedener Parameter ermittelten Peakprofile der UVD (Detektionswellenlänge $\lambda = 300$ nm). Die Arbeiten wurden unter Rotlicht durchgeführt. Die anschließende Auswertung erfolgte durch Anwendung der Keithley Software (s.o.) mittels eines Basic-Programms, wobei die Peakhöhe h , die Peakfläche A , sowie die Zeit, die dem Peakmaximum entspricht, T_{\max} bestimmt wurden.

Für weitere Berechnungen nach Methode 2 (vgl. Kapitel 3.2.2.1.) und die graphische Darstellung der Peakprofile erfolgte Datentransfer zu microsoft excel. Die lineare Regressionsanalyse erfolgte mittels ORIGIN windows microcalTM software.

Bei der Bestimmung der Bestrahlungszeiten richten sich die Angaben des Innendurchmessers nach denen der Herstellerangaben, die Längen der Schläuche wurde selbst festgesetzt. Die Reaktionskapillaren wurden um 4 cm der angegebenen Länge verlängert. Diese Enden (jeweils 2 cm am Anfang und Ende der Kapillare) dienten der einfacheren Integration in das HPLC-System mittels Kupplungsstücken und wurden bei den Versuchen zur Bestrahlung durch Abkleben intransparent gemacht. Weiterhin wurde die Bestimmung von T_0 nach Integration einer 4 cm langen Kapillare durchgeführt, um beide relevanten Kupplungsstücke zu integrieren (siehe auch Kapitel 3.2.2.1.).

4.2.1 Bestimmung der Verweilzeiten im System ohne Kapillaren

Durch Injektion ($n = 6$) der Aktinometer-Lösung in das FIA-System ohne Integration der Reaktionsschleifen wurden die Verweilzeiten T_0 an drei Tagen bei verschiedenen

Flußraten ($F = 0,2; 0,4; 0,7; 1,0; 1,5$ mL/min) ermittelt. Die Bestimmung erfolgte nach der Integration eines 4 cm langen Stücks Kapillare (siehe Kapitel 3.2.2.1.).

4.2.2 Bestimmung der Dispersionskoeffizienten durch das Einführen von Windungen

Die Bestimmung erfolgte nach Integration der selbst gefertigten Reaktionsschleifen ($ID = 0,254$ mm, $l = 1, 5$ und 15 m) und der handelsüblichen Reaktionsschleife ($ID = 0,254$ mm, $l = 5$ m) nach und vor dem Häkeln; ($n = 6$). Die nicht gehäkelten Kapillaren wurden nach der Hälfte der Länge die Kapillaren gewunden, so daß diese als lockere Schleife in das System integriert wurden.

4.2.3 Bestimmung der Verweilzeiten im Gesamtsystem

Die Verweilzeiten in selbst gefertigten Kapillaren aus PTFE und ETFE ($ID = 0,254$ mm) mit unterschiedlichen Längen ($l = 1,04; 1,54; 2,04; 2,54; 3,04$ m) wurden bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten ($F = 0,2; 0,5$ und $1,0$ mL/min) bestimmt; ($n = 4$). Die Auswertung erfolgte mittels linearer Regression.

Die Anwendung der verschiedenen Auswertemethoden (siehe Kapitel 3.2.2.1.) erfolgte anhand der ermittelten Peakprofile nach Integration einer selbst gefertigten ETFE-Kapillare (Länge $l = 1,04$ m, Innendurchmesser $ID = 0,254$ mm) unter Variation der Flußrate ($F = 0,2; 0,4; 0,7; 1,0$ und $1,5$ mL/min); ($n = 6$).

4.2.4 Einfluß des Unterbrechens der Pumpentätigkeit auf die Peakform

Die Peakformen der Signale nach Passieren einer selbst gefertigten ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,254$ mm) unter Unterbrechung der Pumpentätigkeit nach 15 s für 10 s, 1 min, 10 min, 50 min, 60 min, 120 min 180 min bei einer Fließgeschwindigkeit von $F = 0,5$ mL/min wurden durch Übereinanderlegen der erhaltenen Signale und Bestimmung der Flächen und Peakhöhen ausgewertet.

4.2.5 Einfluß der Temperatur

Die Peakformen der Signale nach Passieren einer selbst gefertigten ETFE-Kapillare ($l = 2$ m, $ID = 0,254$ mm) und Erwärmen der Reaktionsschleife in einem Wasserbad (Temperatur: 20, 30, 40, 50, 60 und 70 °C) bei einer Fließgeschwindigkeit von 1,5

mL/min wurden durch Übereinanderlegen der erhaltenen Signale und Bestimmung der Flächen und Peakhöhen ausgewertet.

4.2.6 Vergleich der eingesetzten Reaktionsschleifen

Die Bestrahlungszeiten 16 verschiedener selbst gefertigter oder käuflich erworbener Reaktionskapillaren wurden bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,2 mL/min theoretisch berechnet und praktisch bestimmt; (n = 4).

4.3 Aktinometrische Bestimmung von Strahlungsintensitäten

Die aktinometrischen Bestimmungen erfolgten nach Hatchard und Parker [26], modifiziert nach Murov [29].

4.3.1 Lösungen

1. o-Phenanthrolin-Lösung: 0,2 g 1,10-Phenanthrolin wurden in 100 mL Wasser gelöst
2. Pufferlösung: 82 g NaOAc·3 H₂O und 10 mL konz. H₂SO₄ wurden zu 1,0 L mit Wasser aufgefüllt
3. Fe₂(SO₄)₃-Lösung: 100 g Fe₂(SO₄)₃ · nH₂O und 55 mL konz. H₂SO₄ wurden zu 1,0 L mit Wasser aufgefüllt
4. EDTA-Lösung: 0,1 mol/L EDTA (Ampulle)
5. K₂C₂O₄-Lösung: 1,2 mol/L K₂C₂O₄
6. FeSO₄-Lösung: 0,08 mol/L FeSO₄-Lösung in 0,05 mol/L H₂SO₄
7. K₂Cr₂O₇-Lösung: 0,016 mol/L K₂Cr₂O₇
8. Diphenylamin-Lösung: 1 % Diphenylamin in konz. H₂SO₄

4.3.2 Bestimmung des Absorptionskoeffizienten des o-Phenanthrolinkomplexes

Die FeSO₄-Lösung wurde mit der K₂Cr₂O₇-Lösung nach Zugabe von Diphenylaminlösung eingestellt und zu $4 \cdot 10^{-4}$ mol/L verdünnt. Jeweils 0; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 mL der Lösung wurden in 25 mL Kolben gegeben und mit 0,05 mol/L H₂SO₄ auf ungefähr 12,5 mL aufgefüllt. Nach Zugabe von 2 mL 0,2 % 1,10-Phenanthrolinlösung und Auffüllen der Kolben mit Pufferlösung wurde die Absorption bei 510 nm gemessen. Nach Durchführung einer linearen Regression wurde aus der Steigung der Geraden der Absorptionskoeffizient ermittelt.

4.3.3 Vorbereitung der Aktinometerlösung

Die $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ -Lösung wurde mit der EDTA-Lösung in Glycin-gepufferter Lösung (0,3 g/ 100 mL Lösung, $\text{pH} = 3-4$) mit Salicylsäure (0,2g/ 100 mL Lösung) als Indikator eingestellt.

Bei Bedarf wurden 5,0 (bzw. 50,0) mL der $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ -Lösung und 5,0 (bzw. 50,0) mL der $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -Lösung zu 100,0 mL aufgefüllt.

4.3.4 Intensitätsmessungen

4.3.4.1 Stationäre Bestrahlung

Die Bestrahlung von 2,0 mL Aktinometer-Lösung (0,02 mol/L) erfolgte in Quarzküvetten (1 cm Schichtdicke) für 5, 8, 10, 20, 25 s (UV-C-Strahler) und 10, 20, 25, 30, 40 s (UV-B und UV-A-Strahler). 1 mL der bestrahlten Lösung wurde mit 2 mL o-Phenanthrolin-Lösung und 2 ml Puffer-Lösung versetzt, mit Wasser zu 10,0 mL aufgefüllt und die Absorption bei 510 nm bestimmt. Als Vergleich diente eine entsprechende nicht bestrahlte Lösung.

4.3.4.2 Bestrahlung im Durchfluß

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Kapitel 2.1.3.3.)

Probe: Aktinometer-Lösung ($2 \cdot 10^{-2}$ mol/L)

Versuchsdurchführung:

Eine 0,02 molare Aktinometer-Lösung wurde entsprechend der späteren Proben in das Durchfluß-System injiziert und nach Passage des photochemischen Reaktors in einem 2,0 mL Kolben aufgefangen. Die Arbeiten wurden unter Rotlicht durchgeführt. Anschließend erfolgte nach Zugabe von 500 μL o-Phenanthrolin-Lösung und 500 μL Puffer-Lösung und Auffüllen des Kolbens die Bestimmung der Absorption bei 510 nm. Der Nullabgleich erfolgte gegen eine entsprechend den oben angegebenen Bedingungen durchgeführte Probe ohne Bestrahlung. Folgende Parameter wurden variiert:

1. Das Einstrahlungsspektrum: Soweit keine anderen Angaben erfolgen wurden alle nachfolgenden Experimente mit den drei Hg-Niederdruckstrahlern mit Emissionsbereichen im UV-B, UV-A und UV-C durchgeführt (Nutz-Brenndauer der Strahler < 500 h).

2. Die Fließgeschwindigkeit: Die Bestrahlung erfolgte unter Einsatz der Kühlung in gehäkelten Kapillaren aus PTFE und ETFE ($l = 1,0 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$) bei 0,7; 0,8; 1,0; 1,5 und 2,0 mL/min (UV-C-Strahler) und 0,3; 0,4; 0,5; 0,7 und 1,0 mL/min (UV-A-Strahler und UV-B-Strahler); ($n = 4$). Für alle nachfolgenden Versuche betrug die Flußrate 2,0 mL/min für den UV-C-Strahler und 1,0 mL/min für den UV-A-Strahler und UV-B-Strahler, soweit nicht anders angegeben.
3. Die Kapillarlänge: Die Bestrahlung erfolgte unter Einsatz der Kühlung in gehäkelten Kapillaren aus PTFE und ETFE ($ID = 0,254 \text{ mm}$) mit 1; 1,5; 2; 2,5; 3 m Länge. Für alle folgenden Versuche wurden Kapillaren mit 1 m Länge verwendet; ($n = 4$).
4. Der Einsatz von Reflektormaterialien: Eingesetzt wurden unter Einsatz des Ventilators der photochemische Reaktor, eine aus Aluminiumfolie gefertigte Röhre mit 5 cm Durchmesser und eine aus schwarzer Pappe gefertigte Röhre mit 10 cm Durchmesser; ($n = 6$).
5. Das Material der Reaktionsschleifen: Der Vergleich zwischen Quarz, PTFE und ETFE erfolgte mit Kühlung durch Einsatz kurzer, nicht gewickelter Reaktionskapillaren ($l = 12 \text{ cm}$), die durch ein Trägersystem in einem Abstand von 0,8 cm längs des eingesetzten Strahlers positioniert wurden bei einer Flußrate von 0,15 mL/min; ($n = 6$).
6. Die Lebensdauer der Lampen: Vergleichende Untersuchungen zwischen drei UV-C-Niederdruckstrahlern, die unterschiedliche Arbeitsstunden (100 h, 300 h, > 1500 h) in Betrieb waren, in einer ETFE-Kapillare ohne Kühlung durchgeführt; ($n = 6$).
7. Die Windungen der Kapillare: Kapillaren aus ETFE ($l = 1 \text{ m}$; $ID = 0,254 \text{ mm}$) wurden um das Trägersystem gewickelt (in eine Richtung) oder als gehäkelte Reaktionskapillare eingesetzt. Der Abstand zur Lampe betrug 0,8 cm. Die Flußrate betrug 0,5 mL/min.
8. Der photochemische Reaktor: Eingesetzt wurden der konstruierte photochemische Reaktor und das handelsübliche Gerät "Beam Boost" der Firma ICT. Die Bestrahlung erfolgte in ETFE-Kapillaren mit dem UV-C und UV-A-Strahler; ($n = 6$).

9. Die Temperatur: Die nachfolgenden Versuche wurden sowohl mit (20 - 23°C) als auch ohne Kühlung (45 - 50°C) durchgeführt.

10. Die Einbrenndauer der Lampe: Vor den durchgeführten Versuchen wurde die Aktinometer-Lösung direkt nach dem Einschalten der Strahlungsquelle und weitergehend alle 5 min (bis 60 min) injiziert. Nach 8 h Einbrenndauer erfolgten wiederum 6 Injektionen in 5 minütigen Abständen. Die Bestrahlung erfolgte mit dem UV-A, UV-B und UV-C-Strahler in gehäkelten Reaktionsschleifen (ETFE und PTFE, $l = 1 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$) sowohl mit als auch ohne Kühlung.

4.3.4.3 Abschätzung der Einstrahlintensität

Probe: Aktinometer-Lösung ($0,2 \text{ mol/L}$ und 10^{-5} mol/L)

1. Bestimmung des Absorptionskoeffizienten der Aktinometer-Lösung:

Die Bestimmung des Absorptionskoeffizienten bei 254 nm erfolgte mit Aktinometer-Lösungen der Konzentrationen $c = 4 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $6 \cdot 10^{-5}$ und $7 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$. Die Bestimmungen des Absorptionskoeffizienten bei 311 nm erfolgte mit Aktinometer-Lösungen der Konzentrationen $c = 5 \cdot 10^{-5}$; $1 \cdot 10^{-4}$; $1,5 \cdot 10^{-4}$ und $3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$. Die Bestimmungen des Absorptionskoeffizienten bei 366 nm mit den Konzentrationen $c = 2 \cdot 10^{-4}$; $4 \cdot 10^{-4}$; $6 \cdot 10^{-4}$ und $8 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$. Nach dem Durchführen einer linearen Regression wurde aus der Steigung der Geraden der Absorptionskoeffizient ermittelt.

2. Hoher Konzentrationsbereich: "Totalabsorption"

Geräteparameter: HPLC-Anlage B ohne UV-Detektor

Eine Aktinometer-Lösung ($0,2 \text{ mol/L}$) wurde ohne und mit Einsatz der Kühlung in einer Reaktionskapillare bestrahlt. Als Reaktionskapillaren wurden 4,5 cm lange Schläuche aus PTFE, ETFE und Quarz verwendet. Die Lösung wurde mit und ohne Einsatz der Kühlung bei einer Flußrate von $1,0 \text{ mL/min}$ injiziert. Nach 3 s wurde die Pumpentätigkeit für 10, 20, 30, 40 und 50 s (UV-C-Strahler) bzw. 20, 40, 60, 80, 100 und 120 s (UV-B-Strahler) unterbrochen ($n = 3$). Nach dem Durchfließen und Auffangen des Eluats in einem Maßkolben (2 mL) erfolgte nach Zugabe von $500 \mu\text{L}$ o-Phenanthrolin-Lösung und $500 \mu\text{L}$ Puffer-Lösung das Auffüllen des Kolbens und die Bestimmung der Absorption bei 510 nm. Die Auswertung erfolgte nach Auftragen der Absorption gegen die Belichtungszeit mittels linearer Regression.

3. Niedriger Konzentrationsbereich

Geräteparameter: HPLC-Anlage B mit UV-Detektor

Eine Aktinometer-Lösung (10^{-5} mol/L) wurde unter Einsatz der Kühlung bestrahlt. Die Bestrahlung erfolgte in 1m langen gewickelten Schläuche aus PTFE und ETFE (n = 3). Die Flußraten betrugen 2,5; 2,0; 1,0; 0,5 und 0,25 mL/min für die UV-C-Bestrahlung und 1; 0,5; 0,25; 0,2 und 0,1 mL/min für die UV-A- und UV-B-Bestrahlung. Anschließend erfolgte die Detektion bei 300 nm.

4.4 Untersuchungen zur Photostabilität von UV-Filtern

4.4.1 UV-Spektren

Die Aufnahme der UV-Spektren der UV-Filter erfolgte mittels des Shimadzu Spectrophotometer UV-2101-PC im für das Screening relevanten Fließmittel (siehe Kapitel 4.4.2.) bei $pH = 5,5$. Die Konzentration der Lösungen betrug $0,1 \text{ g/L}$; bzw. $1,0 \text{ g/L}$ für 4-Bis(polyethoxy)aminobenzoesäure-polyethoxyethylester (PEG-PABA). Durch den Einsatz eines Thermostaten wurde die Temperatur allmählich bis auf $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ gesteigert.

Zudem erfolgte eine Aufnahme in HCl ($0,1 \text{ mol/L}$) bzw. NaOH ($0,1 \text{ mol/L}$) für wasserlösliche UV-Filter, während für nicht wasserlösliche UV-Filter Methanol/ HCl ($0,1 \text{ mol/L}$) bzw. NaOH ($0,1 \text{ mol/L}$) ($90:10 \text{ v/v}$) eingesetzt wurde.

UV-Spektren der 4-Aminobenzoesäure (PABA) wurden zusätzlich in folgenden Lösungsmitteln aufgenommen ($c = 0,1 \text{ mg/L}$):

- Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,7$ ($10:90 \text{ v/v}$)
- Salzsäure-Lösung ($0,1 \text{ mol/L}$)
- Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,7$ ($10:90 \text{ v/v}$)
- Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ ($10:90 \text{ v/v}$)
- Acetonitril/ Acetat-Lösung $pH = 7,0$ ($10:90 \text{ v/v}$)
- Methanol / Acetat-Lösung $pH = 7,0$ ($10:90 \text{ v/v}$)
- Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung $pH = 2,5$ ($10:90 \text{ v/v}$)

Lösungen:

Perchlorsäure-Lösung $pH = 2,5$:

Perchlorsäure-Lösung R (EAB) wurde tropfenweise zu 1000 mL Wasser gegeben und damit der pH -Wert auf $2,5$ eingestellt.

Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$:

Pufferlösung $pH 5,5$ (EAB) wurde $1:1000$ verdünnt und der pH -Wert mittels Glaselektrode überprüft.

Acetat-Pufferlösung pH = 3,7:

Pufferlösung pH 3,7 (EAB) wurde 1:1000 verdünnt und der pH-Wert mittels Glaselektrode überprüft.

Acetat-Lösung pH = 7,0:

30,0 mg Natriumacetat *R* wurden in 1000 mL gelöst und der pH-Wert mittels Glaselektrode überprüft.

Phosphat-Pufferlösung pH = 7,0:

Phosphat-Pufferlösung pH 7,0 *R* 1 wurde 1:100 verdünnt und der pH-Wert mittels Glaselektrode überprüft.

4.4.2 Fließinjektionsanalyse

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Kapitel 4.1.3.3.) ohne Integration der Trennsäule

Durch Integration des konstruierten Photoreaktors in ein FIA-System mit anschließender UVD und ECD wurde ein Screening für die zehn ausgewählten UV-Filter durchgeführt.

Eingesetzt wurden der UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahler (nach 30 min Einbrenndauer). Die UV-Detektion erfolgte bei zwei Wellenlängen, wobei eine davon die Wellenlänge des jeweiligen Absorptionsmaximums darstellte. Die ECD wurde bei einem Potential von +1200 mV durchgeführt. Die Bestrahlung erfolgte in einer PTFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,294$ mm⁹) bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,5 mL/min, wobei die Bestrahlungszeit durch Stoppen der Pumpe variiert wurde ($T_{\text{stop}} = 40; 80$ und 120 s). Das Screening wurde mit Kühlung durchgeführt und die Temperatur durch einen Thermofühler kontrolliert. Als Fließ- und Lösungsmittel wurde Acetat-Pufferlösung pH = 5.5 eingesetzt, der durch eine Vakuumpumpe entgast wurde. Bei nicht wasserlöslichen UV-Filtern wurde Methanol (90%) zugesetzt. Alle Proben wurden vor Licht geschützt. Die Konzentration betrug 2,5 mg/L (Auftragsmasse: 50 ng) bzw. 25 mg/L für PEG-PABA.

Die Bestimmung der Peakflächen erfolgte:

- ☐ *ohne Bestrahlung*: ohne und mit Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 40; 80 und 120 s ($n = 4$).

⁹ Bei den Untersuchungen zur Photostabilität beziehen sich alle Angaben des Innendurchmessers auf die berechneten Werte aus Tabelle 16, Kapitel 4.2.2.4.

- *mit Bestrahlung* (nach einer Einbrenndauer der Strahlungsquelle von 30 min) ohne und mit Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 120; 40 und 80 s ($n = 4$).
- *ohne Bestrahlung*: Die Bestimmung der Peakflächen ohne Bestrahlung wurde anschließend wiederholt ($n = 4$).

Für 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion wurde zusätzlich ein weitergehendes Screening der UVD bei vier Detektionswellenlängen, jeweils mit und ohne Einsatz der Kühlung, nach einer Bestrahlungszeit von 10 min durchgeführt.

Die Bestrahlung von 4-Acetamidobenzoessäure (PAABA) erfolgte in einer ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,254$ mm) durch die UV-A und UV-C-Strahlungsquelle mit und ohne Einsatz des Ventilators, wobei das Arbeitspotential variiert wurde: + 0,6, + 0,8, + 1,0 und + 1,2 V ($n = 4$). $c = 0,5$ mg/L.

Für 4-Aminobenzoessäure (PABA) wurde die Versuchsdurchführung wie folgt erweitert:

Absorptionsdiagramm:

Zusätzlich wurde das Screening nach Integration eines zweiten UV-Detektors anstelle des amperometrischen Detektors durchgeführt. Die Detektionswellenlängen des ersten Detektors wurden variiert ($\lambda = 270, 260$ und 240 nm), die Detektionswellenlänge des zweiten Detektors blieb konstant bei $\lambda = 280$ nm. Die Bestrahlungszeiten wurden durch Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 1 bis 10 min (in einminütigen Abständen) variiert ($n = 3$).

Konzentration:

Zusätzlich wurden PABA-Lösungen unterschiedlicher Konzentration bestrahlt (1 mg/L, 10 mg/L, 100 mg/L). Die Bestrahlungszeiten wurden durch Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 1 bis 10 min (in einminütigen Abständen) variiert ($n = 3$).

Amperometrische Detektion:

Das Arbeitspotential wurde variiert: von +0,6, +0,8, +1,0 und +1,2 V ($n = 4$) mit und ohne UV-C-Bestrahlung in einer ETFE-Kapillare ($l = 5$ m, $ID = 0,254$ mm); $c = 0,5$ mg/L.

4.4.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Geräteparameter: HPLC Anlage B

Durch Integration des Photoreaktors in ein HPLC-System mit anschließender UVD und ECD wurde ein Screening für die ausgewählten UV-Filter durchgeführt. Die Detektion erfolgte bei zwei Wellenlängen (UVD), wobei eine die Wellenlänge des jeweiligen Absorptionsmaximums darstellte (vgl. Kapitel 4.4.2.). Die ECD erfolgte bei einem Potential von +1,2 V bzw. +1,0 V.

Geräteparameter: HPLC-Anlage A

Für PABA und 4-Acetamidobenzoessäure (PAABA) wurde zusätzlich die Merck-Hitachi HPLC-Anlage (HPLC-Anlage A) eingesetzt. Nach der Detektion durch den Diodenarray-Detektor erfolgte die Fluoreszenzdetektion.

Eingesetzt wurden der UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahler, sowie der Hg-Hochdruckstrahler. Die Bestrahlung erfolgte im konstruierten Photoreaktor in einer ETFE-Kapillare ($l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,257 \text{ mm}$), wobei die Bestrahlungszeiten durch Stoppen der Pumpe bis zu 4 h ($T_{\text{stop}} = 10 \text{ min}, 60 \text{ min}, 2 \text{ h}, 4 \text{ h}$) variiert wurde. Das Screening wurde sowohl mit als auch ohne Kühlung durchgeführt und die Temperatur durch einen Thermofühler kontrolliert.

Als Fließ- und Lösungsmittel wurde Acetatpuffer $pH = 5,5$ eingesetzt, der durch eine Vakuumpumpe entgast wurde. Bei nicht wasserlöslichen UV-Filtern wurde Acetonitril oder Methanol zugesetzt (Fließ- und Lösungsmittel, siehe Tabelle 41). Alle Proben wurden vor Licht geschützt. Die Konzentration der UV-Filter-Lösungen waren $2,5 \text{ mg/L}$, gelöst im Fließmittel und hergestellt aus einer Stammlösung von 10 mg in 100 mL . Um die entstandenen Photoprodukte mit den zugehörigen UV-Spektren (PABA und PAABA) zu erhalten, wurden höhere Konzentrationen ($0,1 \text{ g/L}$) eingesetzt.

Die Linearität im Konzentrationsbereich wurde anhand der Konzentrationen $1,25 \text{ mg/L}$; $2,5 \text{ mg/L}$ und $0,25 \text{ mg/L}$ durch Auftragen der Signale und der Empfindlichkeiten überprüft.

Die Bestimmung der Peakflächen erfolgte:

- ☐ *ohne Bestrahlung*: ohne und mit Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 10 min, 60 min, 2 h, 4 h; ($n = 4$).

- *mit Bestrahlung* (nach einer Einbrenndauer der Strahlungsquelle von 30 min) - ohne und mit Unterbrechen der Pumpentätigkeit für 10 min, 60 min, 2 h, 4 h¹⁰; (n = 4).
- *ohne Bestrahlung*: Die Bestimmung der Peakflächen ohne Bestrahlung wurde anschließend wiederholt; (n = 4).

Tabelle 41: Screening im HPLC-System: Fließ- und Lösungsmittel des jeweiligen UV-Filters

Chemischer Lichtschutzfilter	Fließ- und Lösungsmittel (v/v)
4-Aminobenzoesäure	siehe Tabelle 42
4-Bis(polyethoxy)aminobenzoesäure-polyethoxyethylester	nicht durchgeführt: siehe Kapitel 3.3.11.
1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (90/10)
2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester)	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (90/10)
2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon (Oxybenzonum)	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (70/30)
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure (Sulisobenzonum)	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10/90)
3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (90/10)
4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester	Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (75/25) Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (70/30)
2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10/90)
3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat	Acetonitril/Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (90/10)
4-Acetamidobenzoesäure	Acetonitril/Acetat-Puffer-Lösung pH = 5,5 (90/10) Acetonitril/Acetat-Puffer-Lösung pH = 3,7 (90/10)

¹⁰ die Bestrahlung für 4 h erfolgte nur mit dem UV-A-Strahler

Für 4-Aminobenzoessäure (PABA) wurde die Versuchsdurchführung wie folgt erweitert:

Variation des Fließmittels und der Detektionswellenlänge:

Es wurden Fließmittel und Detektionswellenlänge variiert (analog Tabelle 29, Kapitel 4.3.5.2.1.)

Kinetik des photochemischen Abbaus:

Geräteparameter: HPLC-Anlage B mit UV-C und UV-B-Strahler

ETFE-Kapillare ($l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,257 \text{ mm}$)

Flußrate: $F = 0,5 \text{ mL/min}$

PABA-Lösung: $c = 1,0 \text{ mg/L}$ im Fließmittel

Fließ- und Lösungsmittel:

Tabelle 42: Verwendete Fließ- bzw. Lösungsmittel zur kinetischen Analyse unter Angabe der jeweiligen Zeiten des Unterbrechens der Pumpentätigkeit

Fließ- und Lösungsmittel	UV-C Stoppen der Pumpe T_{stop} [s] ($n = 3$)	UV-B Stoppen der Pumpe T_{stop} [s] ($n = 3$)
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung $\text{pH} = 7,0$ (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120	30, 90, 480, 960, 1920
Acetonitril/ Acetat-Lösung $\text{pH} = 7,0$ (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120	30, 90, 480, 960, 1920
Methanol/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120	30, 90, 480, 960, 1920
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 5,5$ (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120	30, 90, 480, 960, 1920
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 3,7$ (10:90 v/v)	120, 240, 360, 480	480, 960, 1440, 1920, 2880
Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung $\text{pH} = 2,5$ (30:70 v/v)	120, 240, 360, 480	480, 180, 3600, 7200

Variation der Aufgabemassen:

Aufgabemasse: 10 ng, 20 ng und 50 ng

Tabelle 43: Verwendete Fließ- bzw. Lösungsmittel zur Variation der Aufgabemassen unter Angabe der jeweiligen Zeiten des Unterbrechens der Pumpentätigkeit

Fließ- und Lösungsmittel	UV-C Stoppen der Pumpe T_{stop} [s] (n = 3)
Acetonitril/ Phosphat-Pufferlösung pH = 5.5 (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120

Vergleichssubstanzen - Diodenarray-Detektor und Fluoreszenzdetektor (bei verschiedenen Konzentrationen der PABA):

Geräteparameter: HPLC-Anlage A; der fluorimetrische Detektor wurde hinter den UVD geschaltet. (Anregungswellenlänge 280 nm, Detektionswellenlänge 300 nm)

Jeweils drei Konzentrationen der PABA ($c = 100 \text{ mg/L}$; $2,5 \text{ mg/L}$ und $1,0 \text{ mg/L}$ im Fließmittel) wurden injiziert und nach folgender Tabelle die Pumpentätigkeit unterbrochen (n = 3). Als Vergleichssubstanzen wurden 4-Aminophenol, 4-Aminosaliylsäure und 3-Hydroxy-4-aminobenzoessäure im jeweiligen Fließmittel ($c = 1,0 \text{ mg/L}$) eingesetzt.

Tabelle 44: Verwendete Fließ- bzw. Lösungsmittel bei Einsatz des Diodenarray-Detektors und des Fluoreszenzdetektors unter Angabe der jeweiligen Zeiten des Unterbrechens der Pumpentätigkeit

Fließ- und Lösungsmittel	UV-C Stoppen der Pumpe T_{stop} [s] (n = 3)
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120
Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	120, 240, 360, 480, 6000, 12000
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)	30, 60, 90, 120
Methanol/ Acetat-Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	120, 240, 360, 480, 6000, 12000

4.5 Optimierung analytischer Verfahren

4.5.1 Fließinjektionsanalyse

Lösungen der PABA und der PAABA im Fließmittel wurden unter Variation der Bestrahlungszeit durch Unterbrechen der Pumpentätigkeit im FIA-System bestrahlt.

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Injektionsvolumen 20 μL) ohne Trennsäule

Arbeitspotential: a) +600 mV, b) +800 mV

Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$. ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$.

Fließmittel:

a) Methanol/ Perchlorsäure-Lösung $pH = 2,5$ (10:90 v/v)

$T_{\text{stop}} = 40; 80; 120; 160; 240; 600; 900; 1200 \text{ und } 1800 \text{ s}$

b) Methanol/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)

$T_{\text{stop}} = 40; 80; 120; 160; 240; 360; 480; 600; 660; 900 \text{ und } 1200 \text{ s}$

c) Methanol/ Acetat-Lösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v)

$T_{\text{stop}} = 40; 80; 120; 160; 240; 360; 480; 600; 660; 900 \text{ und } 1200 \text{ s}$

d) Acetonitril/ Acetat-Lösung $pH = 7,0$ (10:90 v/v)

$T_{\text{stop}} = 40; 80; 120; 160; 240; 360; 480; 600; 660; 900 \text{ und } 1200 \text{ s}$

4.5.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

4.5.2.1 Einfluß der Temperatur

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Injektionsvolumen 20 μL) mit Trennsäule

Arbeitspotential: +1200 mV

Lösungen der PABA und der PAABA ($c = 18,48, 12,32, 9,24, 6,17 \text{ und } 3,08 \mu\text{mol/L}$, Stammlösung: 1 mmol/L) im Fließmittel wurden unter Variation der Bestrahlungszeit im HPLC-System mittels UV-C-Strahler bestrahlt. Zunächst erfolgte die Bestrahlung ohne Kühlung ($n = 2$), dann mit Kühlung ($n = 4$), anschließend erfolgte die Wiederholung der Werte ohne Kühlung ($n = 2$).

Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$. ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$.

Fließmittel: Acetonitril/Acetat-Pufferlösung $pH = 3,5$ (85/15) (v/v)

4.5.2.2 Einfluß der Konzentration und des Arbeitspotentials

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Injektionsvolumen 20 µL) mit Trennsäule

Arbeitspotential: a) +600 mV, b) +800 mV; c) +1000 mV

Lösungen der PABA und der PAABA aus einer Stammlösung ($c = 1 \text{ mmol/L}$)

($c = 1000; 750; 500; 250; 125; 62,5; 46,88; 35,16; 20,00; 14,06; 7,03; 1,78; 1,00; 0,49; 0,24; 0,12; 0,06 \text{ µM}$)

wurden, beginnend mit der niedrigsten Konzentration, in das HPLC-System injiziert.

Zunächst erfolgte keine Integration des photochemischen Reaktors, dann Integration des Reaktors ohne Betätigen der Strahlungsquelle, dann Bestrahlung mittels UV-C-Strahler. (jeweils $n = 3$).

Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$. ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$.

Fließmittel: Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 3,5$ (85/15) (v/v)

4.5.2.3 Einfluß einer Matrix

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Injektionsvolumen 20 µL) mit Trennsäule

Arbeitspotential: +600 mV

PABA und der PAABA wurden zusammen in der Matrix-Lösung gelöst (Stammlösung: 1 mmol/L) und anschließend ($c = 20,0 \text{ µmol/L}$) im HPLC-System mittels UV-C-Strahler bestrahlt.

Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$. ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$.

Fließmittel: Acetonitril/Acetate-Pufferlösung $\text{pH} = 3,5$ (85/15) (v/v)

Matrix-Lösung:

A) Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $\text{pH} = 3,5$ (85/15) (v/v) 90%

B) Leermatrixprobe 10%

bestehend aus: Hämolytat, Acetyl-CoA-regenerierendes System, Acetyl-Coenzym A, Perchlorsäure

4.5.2.4 Kalibrierung

Geräteparameter: HPLC-Anlage B (Injektionsvolumen 20 µL) mit Trennsäule

Arbeitspotential: +600 mV

PABA und der PAABA wurden zusammen im Fließmittel bzw. der Matrix-Lösung gelöst (Stammlösung: 1 mmol/L) und anschließend ($c = 1,8; 7,2; 14,3; 21,4$ und $35,6 \text{ µmol/L}$) im HPLC-System mittels UV-C-Strahler bestrahlt ($n = 6$).

Die Kalibrierung wurde an drei Tagen wiederholt, am 4. Tag erfolgte die Kalibrierung in der Matrix-Lösung.

Fließgeschwindigkeit $F = 0,5 \text{ mL/min}$. ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,254 \text{ mm}$.

Fließmittel: Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 3,5$ (85/15) (v/v).

5 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Ziel dieser Arbeit war es vorrangig zu prüfen, ob Durchfluß-Photoreaktoren für photochemische Stabilitätsuntersuchungen geeignet sind.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde daher ein photochemischer Durchfluß-Reaktor mit verbesserten Eigenschaften hinsichtlich dieser Art der Anwendung angefertigt. Grundlage der Eigenkonstruktion waren handelsübliche Reaktoren, die in ein HPLC-System nach der Trennsäule integriert ($\text{HPLC-}h\nu$) und zur Optimierung analytischer Verfahren eingesetzt werden. Der selbst gefertigte Reaktor stellt eine kostengünstige Alternative für photochemische Umsetzungen sowohl vor ($h\nu$ -HPLC) als auch nach der Trennsäule dar. Durch die Verwendung von Tefzel-Schläuchen konnten hochdruckstabile Reaktionsschleifen selbst hergestellt werden. Erstmals sind neben den gängigen UV-Strahlungsquellen auch UV-B-Strahler in Durchfluß-Systemen eingesetzt worden. Der Einsatz einer Luftkühlung erlaubte es, den Einfluß der Temperatur auf die Strahlungsintensität, das Dispersionsprofil und die Reaktionen im photochemischen Reaktor zu charakterisieren. Die besondere Berücksichtigung der Art und Form der Kapillaren erforderte eine detaillierte Untersuchung der Bestrahlungszeiten. Es zeigte sich, daß entscheidende Unterschiede bei den Bestrahlungszeiten in Kapillaren gleicher Abmessungen -nach Herstellerangaben- auftraten. Für reproduzierbare Ergebnisse wurde daher empfohlen, die Bestrahlungszeiten experimentell zu ermitteln oder die Umsätze mittels Aktinometer-Substanzen zu vergleichen.

Um Aussagen über Strahlungsintensitäten zu treffen, wurden erstmalig aktinometrische Messungen im Durchfluß durchgeführt. Die besonderen Eigenschaften der Dispersionsprozesse wurden dabei berücksichtigt. Durch den Vergleich der absorbierten Strahlungsintensitäten konnte gezeigt werden, daß diese von der Temperatur, der Einbrenndauer und Lebenszeit des Strahlers, der Verwendung von Reflexionsmaterialien, dem Material der Reaktionsschleife und dem photochemischen Reaktor abhängig waren. Die UV-Durchlässigkeit von ETFE-Kapillaren konnte aufgezeigt werden, wobei aufgrund der damit zur Verfügung stehenden hochdruckstabilen Reaktionsschleifen eine Bestrahlung vor der chromatographischen Trennung ermöglicht wurde. Durch die Abschätzung der eingestrahlten Intensität unter Bedingungen der Totalabsorption (Reaktionsbedingungen 0. Ordnung) bzw. unter Bedingungen geringer Absorption (Reaktionsbedingungen 1. Ordnung) konnte zudem ein annähernder Vergleich mit dem

Standard-Sonnenspektrum erfolgen. Somit waren die Voraussetzungen geschaffen, ein Screening anhand von Modellsubstanzen durchzuführen.

Anhand von ausgewählten UV-Filtern wurde die Effektivität des Reaktors überprüft. Die Integration des Reaktors in ein *FIA-System* ermöglichte ein schnelles Screening und es konnten photochemische Umsätze an folgenden UV-Filtern festgestellt werden:

- ☐ 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester
- ☐ 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on
- ☐ 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1.3-dion
- ☐ 4-Aminobenzoessäure

Folgende UV-Filter hingegen zeigten keine signifikanten Veränderungen der Detektionseigenschaften nach Bestrahlung auf:

- ☐ 2-Cyan-3,3-diphenyl-acrylsäure(2-ethyl-hexylester)
- ☐ 2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenon
- ☐ 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure
- ☐ 3,3,5-Trimethyl-cyclohexyl-salicylat
- ☐ 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure

Im *FIA-System* wurden weiterhin Aussagen über die Konzentrationsabhängigkeit, die Einheitlichkeit der photochemischen Reaktionen, Temperatureffekte, das Einstrahlungsspektrum und die Bestrahlungszeit getroffen.

Im *HPLC-System* konnten photochemische Produkte aufgetrennt werden:

- ☐ 4-Methoxy-zimtsäure-2-ethyl-hexylester

Als photochemisches Produkt wurde mittels Dioden-Array-Detektion das Z-Isomer charakterisiert. Die Verhältnisse der *E*- und *Z*-Isomere konnten in Abhängigkeit von der Expositionszeit und des Einstrahlungsspektrums bestimmt werden.

□ 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on

Entsprechend wurde als photochemisches Produkt ebenfalls das Z-Isomer charakterisiert. Eine weitergehende Zersetzung wurde auch durch den UV-B-Strahler festgestellt, so daß für zukünftige Arbeiten eine Identifizierung aller photochemischen Produkte sinnvoll wäre.

□ 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion

Sowohl durch UV-C- als auch durch UV-B-Strahlung konnte ein photochemischer Abbau verfolgt werden. Das Auftreten eines temperaturabhängigen Keto-Enol-Gleichgewichtes konnte durch HPLC-Untersuchungen ohne Bestrahlung verfolgt werden.

□ 4-Aminobenzoessäure

Für 4-Aminobenzoessäure konnte eine Vielzahl von photochemischen Produkten, die auch amperometrisch detektierbar waren, sowohl durch UV-C- als auch durch UV-B-Bestrahlung nachgewiesen werden. 4-Amino-3-Hydroxybenzoessäure konnte durch die Vergleichssubstanz identifiziert werden. Der Abbau und die Abbaukinetik der PABA konnte chromatographisch unter Variation von Parametern verfolgt werden. Es wurden sowohl Geschwindigkeitskonstanten bestimmt als auch die Quantenausbeuten abgeschätzt.

□ 4-Acetamidobenzoessäure

4-Acetamidobenzoessäure wurde sowohl durch UV-C- als auch durch UV-B-Bestrahlung abgebaut. Die photochemischen Produkte waren im Gegensatz zur Ausgangsverbindung amperometrisch oxidierbar und damit durch die ECD zu erfassen. Ein Photoprodukt wurde durch Vergleich von Retentionszeiten, UV-Spektren und Peakhöhenverhältnisse der UVD, ECD und Fluoreszenzdetektion als PABA charakterisiert.

Die Ergebnisse der Bestrahlung vor der Trennsäule ($h\nu$ -HPLC) wurden wiederum zur Optimierung einer analytischen Methode zur Bestimmung von 4-Aminobenzoessäure (PABA) und 4-Acetamidobenzoessäure (PAABA) genutzt (HPLC- $h\nu$). Es wurde aufgezeigt, daß PAABA nach Bestrahlung amperometrisch (Arbeitselektrode: Glassy Carbon, Referenzelektrode: Ag/ AgCl/ c(KCl) = 3 mol/L); detektiert werden konnte. Die Photoprodukte der PABA konnten bei niedrigeren Potentialen erfaßt werden. Diese Eigenschaften wurden v.a. hinsichtlich der Erhöhung der Selektivität einer Bestimmungsmethode genutzt.

Die Vorteile des Durchfluß-Systems wurde anhand folgender Punkte deutlich:

- ☐ Reproduzierbares Einbringen einer Menge zu untersuchender Substanz
- ☐ Keine Zwischenschritte zwischen Bestrahlung und chromatographischer Trennung bzw. Detektion \Rightarrow Verschleppungen oder Verunreinigungen werden minimiert
- ☐ Möglichkeit der Variation von Parametern (z.B. Bestrahlungszeit, Temperatur, Konzentration, Strahlungsintensität, Einstrahlungsspektrum, Zusammensetzung der mobilen Phase, pH-Wert)
- ☐ Einfache Charakterisierung von Photoprodukten durch Vergleich von Retentionszeiten, Detektorsignalen und UV-Spektren
- ☐ Möglichkeit der Bestimmung von Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten
- ☐ Abschätzung von Strahlungsintensitäten und damit von Quantenausbeuten
- ☐ Kopplung verschiedener Detektoren \Rightarrow Möglichkeit zur Charakterisierung der Produkte bzw. Gewinnen von Hinweisen auf Peakreinheit
- ☐ Ergebnisse der Bestrahlung vor der Trennsäule sind unter Umständen für die Bestrahlung nach der Trennsäule zu nutzen \Rightarrow Möglichkeit der Optimierung analytischer Verfahren

Für zukünftige Arbeiten wäre die Bestimmung weiterer Photoprodukte der UV-Filter (v.a. 3-(4'-Methyl)benzyliden-bornan-2-on und 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-propan-1,3-dion) von Interesse. Hierzu könnten weitere Detektoren, wie eine HPLC-hv-MS-Kopplung nützlich sein. Die Bewertung der photochemischen Produkte hinsichtlich toxikologischer Kriterien sollte für alle UV-Filter erfolgen.

Für die auf dem Gebiet der Nachsäulenbestrahlung zahlreich durchgeführten Arbeiten könnte die Bestrahlung vor der Trennsäule Hinweise auf die Art der photochemischen Reaktion liefern. Dadurch könnten die entsprechenden Methoden erklärt bzw. optimiert werden. Weiterhin könnte die Methode der Aktinometrie im Durchfluß als Standardisierung dieser unter verschiedenen Bedingungen durchgeführten Arbeiten dienen.

6 ANHANG

Anhang 1: Verweilzeiten im Gesamtsystem nach Integration von ETFE und PTFE Reaktionsschleifen unterschiedlicher Länge bei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten; ($n = 4$).

Versuchsssdurchführung: siehe Kapitel 4.2.3.

ETFE:

Länge l^{11} [m]	0,2 mL/min		0,5 mL/min		1,0 mL/min	
	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]
1	33,86	0,214	13,86	0,138	6,98	0,235
1,5	42,28	0,320	16,49	0,281	8,32	0,112
2	49,41	0,375	19,22	0,221	9,61	0,142
2,5	56,90	0,316	22,45	0,289	11,30	0,183
3	63,33	0,479	25,25	0,387	12,48	0,320

PTFE:

Länge l [m]	0,2 mL/min		0,5 mL/min		1,0 mL/min	
	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]	Verweilzeit T [s]	sdv(T) [s]
1	32,38	0,206	12,76	0,048	6,50	0,216
1,5	37,83	0,250	14,80	0,257	7,45	0,208
2	44,18	0,250	17,40	0,316	8,60	0,082
2,5	49,68	0,350	19,75	0,289	9,81	0,252
3	56,90	0,274	22,45	0,304	11,18	0,148

¹¹ Die Kapillarlängen l wurden jeweils um 4 cm der angegebenen Länge verlängert, da zur Bestimmung der Bestrahlungszeit ohne Integration der Kapillaren T_0 ein 4 cm langes Stück der Kapillare eingesetzt wurde. Für zukünftige Messungen wurden die Enden abgeschirmt, so daß dann die Länge der UV-durchlässigen Kapillare den angegebenen Werten entsprach. (siehe auch Kapitel 3.2.2.1.)

Anhang 2: PTFE: Absorptionen des o-Phenanthrolinkomplexes (Mittelwerte).

Bestrahlung der Aktinometer-Lösung (0,02 mol/L) in einer PTFE-Kapillare ($l = 1^{12}$ m, $ID = 0,227^{13}$ mm) mittels UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahler bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten (durch Variation der Flußrate und der Länge der Kapillaren), ($n = 4$).

Versuchsdurchführung: siehe Kapitel 4.3.4.2.

E_λ : Absorption des Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm

zur Berechnung:

ε : Absorptionskoeffizient des o-Phenanthrolinkomplexes: $11200 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;

V : Volumen des Kolbens: 2 mL

d : Schichtdicke: 1 cm

Variation der Flußrate**UV-C**

Fließ- geschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	E_λ	$\text{sdv}(E_\lambda)$	$n_{\text{Fe}^{2+}}$ [mol]	$n_{\text{Fe}^{3+}}$ [mol]	$\text{sdv}(n_{\text{Fe}^{3+}})$ [mol]
2	1,21	0,650	0,0318	$1,16 \cdot 10^{-7}$	$2,84 \cdot 10^{-7}$	$5,68 \cdot 10^{-9}$
1,5	1,62	0,867	0,0286	$1,55 \cdot 10^{-7}$	$2,45 \cdot 10^{-7}$	$5,10 \cdot 10^{-9}$
1	2,43	1,249	0,0270	$2,23 \cdot 10^{-7}$	$1,77 \cdot 10^{-7}$	$4,82 \cdot 10^{-9}$
0,8	3,04	1,450	0,0381	$2,59 \cdot 10^{-7}$	$1,41 \cdot 10^{-7}$	$6,80 \cdot 10^{-9}$
0,7	3,47	1,531	0,0413	$2,73 \cdot 10^{-7}$	$1,27 \cdot 10^{-7}$	$7,38 \cdot 10^{-9}$

UV-B

Fließ- geschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	E_λ	$\text{sdv}(E_\lambda)$	$n_{\text{Fe}^{2+}}$ [mol]	$n_{\text{Fe}^{3+}}$ [mol]	$\text{sdv}(n_{\text{Fe}^{3+}})$ [mol]
1	2,43	0,405	0,0350	$0,723 \cdot 10^{-7}$	$3,28 \cdot 10^{-7}$	$6,25 \cdot 10^{-9}$
0,7	3,03	0,567	0,0421	$1,013 \cdot 10^{-7}$	$2,99 \cdot 10^{-7}$	$7,52 \cdot 10^{-9}$
0,5	4,86	0,745	0,0252	$1,330 \cdot 10^{-7}$	$2,67 \cdot 10^{-7}$	$4,50 \cdot 10^{-9}$
0,4	6,07	0,918	0,0146	$1,639 \cdot 10^{-7}$	$2,36 \cdot 10^{-7}$	$2,61 \cdot 10^{-9}$
0,3	8,09	1,080	0,0136	$1,928 \cdot 10^{-7}$	$2,07 \cdot 10^{-7}$	$2,43 \cdot 10^{-9}$

¹² Die Kapillarlängen l wurden jeweils um 4 cm der angegebenen Länge verlängert (siehe Anhang 1, Fußnote)

¹³ berechneter Innendurchmesser (siehe Kapitel 3.2.2.4.)

UV-A

Fließ- geschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	E_{λ}	$\text{sdv}(E_{\lambda})$	$n_{\text{Fe}^{2+}}$ [mol]	$n_{\text{Fe}^{3+}}$ [mol]	$\text{sdv}(n_{\text{Fe}^{3+}})$ [mol]
1	2,43	0,350	0,0357	$0,625 \cdot 10^{-7}$	$3,38 \cdot 10^{-7}$	$6,38 \cdot 10^{-9}$
0,7	3,03	0,482	0,0351	$0,857 \cdot 10^{-7}$	$3,14 \cdot 10^{-7}$	$6,27 \cdot 10^{-9}$
0,5	4,86	0,685	0,0242	$1,214 \cdot 10^{-7}$	$2,79 \cdot 10^{-7}$	$4,32 \cdot 10^{-9}$
0,4	6,07	0,808	0,0286	$1,429 \cdot 10^{-7}$	$2,57 \cdot 10^{-7}$	$5,11 \cdot 10^{-9}$
0,3	8,09	0,950	0,0148	$1,697 \cdot 10^{-7}$	$2,30 \cdot 10^{-7}$	$2,64 \cdot 10^{-9}$

Variation der Kapillarlänge:

Absorptionen des *o*-Phenanthrolinkomplexes nach Bestrahlung der Aktinometer-Lösung (0,02 mol/L) in einer PTFE-Kapillare ($ID = 0,227^{14}$ mm) mittels UV-C-Strahler bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten (durch Variation der Länge); ($n = 4$).

Länge l^{15} [m]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	E_{λ}	$\text{sdv}(E_{\lambda})$	$n_{\text{Fe}^{2+}}$ [mol]	$n_{\text{Fe}^{3+}}$ [mol]	$\text{sdv}(n_{\text{Fe}^{3+}})$ [mol]
1	1,21	0,650	0,0259	$1,16 \cdot 10^{-7}$	$2,84 \cdot 10^{-7}$	$4,63 \cdot 10^{-9}$
1,5	1,87	0,856	0,0159	$1,53 \cdot 10^{-7}$	$2,47 \cdot 10^{-7}$	$2,84 \cdot 10^{-9}$
2	2,51	1,115	0,0199	$1,99 \cdot 10^{-7}$	$2,01 \cdot 10^{-7}$	$3,55 \cdot 10^{-9}$
2,5	3,05	1,256	0,0369	$2,24 \cdot 10^{-7}$	$1,76 \cdot 10^{-7}$	$6,59 \cdot 10^{-9}$
3	3,78	1,356	0,0405	$2,42 \cdot 10^{-7}$	$1,58 \cdot 10^{-7}$	$7,23 \cdot 10^{-9}$

¹⁴ berechneter Innendurchmesser (siehe Kapitel 3.2.2.4.)

¹⁵ Die Kapillarlängen l wurden jeweils um 4 cm der angegebenen Länge verlängert (siehe Anhang 1, Fußnote)

Anhang 3: Berechnete absorbierte Strahlungsintensitäten (Mittelwerte) bei Einsatz eines UV-C UV-B und UV-A-Strahlers in Abhängigkeit vom Material der Reaktionsschleife, dem Einsatz der Kühlung und der Einbrenndauer des Strahlers (n = 6 bzw. n = 18)

Kapillare: $l = 1\text{ m}$; $ID = 0,227\text{ mm}$ (PTFE); $ID = 0,247\text{ mm}$ (ETFE).

Flußrate: $F = 0,5\text{ mL/min}$ (UV-A und UV-B); $1,0\text{ mL/min}$ (UV-C)

Die angegebenen Standardabweichungen basieren auf den Standardabweichungen der Absorptionsmessung

UV-C:

Material der Reaktions-schleife/	Einbrenndauer: 30 min Tag 1 (n = 6)		Einbrenndauer: 8 h (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 2 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 3 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 1/2/3 (n = 18)	
1: Kühlung an	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv
2: Kühlung aus	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]
ETFE/1	5,53	0,177	5,43	0,211	5,74	0,155	5,82	0,208	5,70	0,209
ETFE/2	6,92	0,201	6,84	0,101	6,65	0,177	6,58	0,157	6,72	0,251
PTFE/1	5,65	0,304	5,54	0,125	5,31	0,217	5,22	0,112	5,39	0,207
PTFE/2	6,84	0,245	6,92	0,144	6,74	0,322	6,88	0,147	6,82	0,285

UV-B:

Material der Reaktions-schleife/	Einbrenndauer: 30 min Tag 1 (n = 6)		Einbrenndauer: 8 h (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 2 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 3 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 1/2/3 (n = 18)	
1: Kühlung an	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$	sdv
2: Kühlung aus	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]	[Es/s]	$(I_{\text{abs}}) \cdot 10^8$ [Es/s]
ETFE/1	2,13	0,104	2,25	0,207	2,35	0,158	2,40	0,147	2,29	0,255
ETFE/2	2,87	0,258	2,95	0,256	2,95	0,174	2,91	0,104	2,91	0,202
PTFE/1	2,25	0,132	2,20	0,185	2,42	0,189	2,32	0,117	2,33	0,189
PTFE/2	2,95	0,214	3,01	0,157	2,87	0,205	2,77	0,148	2,86	0,201

UV-A:

Material der Reaktions- schleife/	Einbrenndauer: 30 min Tag 1 (n = 6)		Einbrenndauer: 8 h (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 2 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 3 (n = 6)		Einbrenndauer: 30 min - Tag 1/2/3 (n = 18)	
1: Kühlung an 2: Kühlung aus	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]	$I_{\text{abs}} \cdot 10^8$ [Es/s]	sdv (I_{abs}) $\cdot 10^8$ [Es/s]
ETFE/1	2,48	0,155	2,44	0,145	2,51	0,214	2,55	0,101	2,51	0,104
ETFE/2	3,25	0,178	3,15	0,154	3,25	0,114	3,30	0,187	3,27	0,155
PTFE/1	2,45	0,214	2,54	0,117	2,58	0,204	2,45	0,122	2,49	0,122
PTFE/2	2,95	0,205	3,05	0,115	3,01	0,145	3,14	0,147	3,03	0,168

Anhang 4: ETFE: Absorptionen des o-Phenanthrolinkomplexes (Mittelwerte) nach Bestrahlung der Aktinometer-Lösung (0,02 mol/L) in einer PTFE-Kapillare ($l = 1$ m, $ID = 0,247$ mm) mittels UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahler bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten (durch Variation der Flußrate), ($n = 4$).

E_λ : Absorption des Phenanthrolinkomplexes bei 510 nm

UV-C

Fließgeschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	A_λ	$sdv(A_\lambda)$
2	1,44	0,768	0,018
1,5	1,92	0,961	0,016
1	2,87	1,250	0,015
0,8	3,59	1,441	0,021
0,7	4,11	1,499	0,023

UV-B

Fließgeschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	A_λ	$sdv(A_\lambda)$
1	2,87	0,434	0,019
0,7	4,11	0,672	0,020
0,5	5,75	0,966	0,028
0,4	7,19	1,092	0,036
0,3	9,58	1,386	0,035

UV-A

Fließgeschwindigkeit F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	A_λ	$sdv(A_\lambda)$
1	2,87	0,48	0,015
0,7	4,11	0,64	0,020
0,5	5,75	0,88	0,028
0,4	7,19	1,04	0,033
0,3	9,58	1,2	0,038

Anhang 5: Mittelwerte der Absorptionen des o-Phenanthrolinkomplexes in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit in einer Küvette (stationäre Bestrahlung)
Versuchsdurchführung: siehe Kapitel 4.3.4.1.

T_{hv} [s]	UV-C-Strahler		UV-B-Strahler		UV-A-Strahler	
	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)
5	0,332	0,010				
8	0,543	0,015				
10	0,654	0,012	0,302	0,009	0,256	0,016
20	1,309	0,014	0,630	0,023	0,532	0,023
25	1,671	0,018	0,822	0,032	0,656	0,021
30			0,928	0,011	0,791	0,009
40			1,242	0,031	1,017	0,021

Anhang 6: Hoher Konzentrationsbereich; Aktinometer-Lösung ($c = 0,2 \text{ mol/L}$):
Mittelwerte der Absorptionen des o-Phenanthrolinkomplexes in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit in einer kurzen Kapillare ($l = 4,5 \text{ cm}$).
Versuchsdurchführung: siehe Kapitel 4.3.4.3.

T_{hv} [s]	ETFE-Kapillare		PTFE-Kapillare		Quarz-Kapillare	
	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)	Mittelwert A_λ	sdv(A_λ)
0	0,152	0,0227	0,152	0,0315	0,137	0,0205
10	0,378	0,0082	0,340	0,0122	0,282	0,0131
20	0,553	0,0214	0,491	0,0241	0,397	0,0103
30	0,714	0,0083	0,675	0,0143	0,532	0,0131
40	0,899	0,0158	0,847	0,0065	0,668	0,0114
50	1,124	0,0164	1,050	0,0146	0,780	0,0186

Anhang 7: Niedriger Konzentrationsbereich; Aktinometer-Lösung ($c = 10^{-5}$ mol/L):
Bestrahlung bei Einsatz eines UV-C-, UV-B- und UV-A-Strahlers in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und dem Material der Reaktionsschleife.

Detektionswellenlänge $\lambda = 300$ nm

Kapillare: $l = 1$ m; $ID = 0,223$ mm (PTFE); $ID = 0,250$ mm (ETFE).

AREA%: Mittelwerte der Flächen zur Zeit T_{hv} dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$ ($n = 3$), multipliziert mit dem Faktor 100.

sdv(AREA%): beruhend auf der Standardabweichungen der Flächen bei T_{hv}

Versuchsdurchführung: Kapitel 4.3.4.3.

ETFE:

UV-C

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
2,5	1,18	79	3,2
2	1,47	69,5	2,5
1	2,95	52	2,7
0,5	5,89	33	1,8
0,25	11,78	9,5	2,0

UV-B

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
1	2,95	84	2,5
0,5	5,89	72	2,8
0,25	11,78	52	2,4
0,2	14,73	47	2,2
0,1	29,45	21,2	2,1

UV-A

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
1	2,95	95	2,2
0,5	5,89	88	2,1
0,25	11,78	80	2,1
0,2	14,73	74,5	2,5
0,1	29,45	61,2	2,8

PTFE:**UV-C**

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
2,5	0,94	80	1,9
2	1,17	72,6	1,8
1	2,34	54,2	2,1
0,5	4,69	35,8	2,0
0,25	9,37	11,5	2,5

UV-B

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
1	2,34	86	2,8
0,5	4,69	75,2	3,2
0,25	9,37	61,2	1,9
0,2	11,72	50,1	2,2
0,1	23,43	34,2	2,9

UV-A

Flußrate F [mL/min]	Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)
1	2,34	95	2,9
0,5	4,69	90	3,1
0,25	9,37	81,5	1,5
0,2	11,72	75,4	1,9
0,1	23,43	63,2	2,9

[Berechnung der Bestrahlungszeiten durch $T_{\text{hv}} = V_{\text{hv}}/F$, wobei $d_{\text{PTFE}} = 0,223$ mm und $d_{\text{ETFE}} = 0,250$ mm]

Anhang 8: Umrechnung der Spektralflußverteilung der UV-B und UV-A-Strahler von energie- auf teilchenbezogene Werte; bis 400 nm

Wellen- länge [nm]	Anteil der Emission UV-B (Herstellerangaben) energiebezogen	Anteil der Emission UV-B (berechnet) teilchenbezogen	Anteil der Emission UV-A (Herstellerangaben) energiebezogen	Anteil der Emission UV-A (berechnet) teilchenbezogen
270-275	0,002	0,002		
275-280	0,006	0,005		
280-285	0,014	0,012		
285-290	0,032	0,028		
290-295	0,040	0,036		
295-300	0,063	0,058		
300-305	0,084	0,079		
305-310	0,096	0,091	0,001	0,001
310-315	0,119	0,115	0,004	0,003
315-320	0,106	0,104	0,016	0,014
320-325	0,103	0,103	0,012	0,010
325-330	0,061	0,062	0,018	0,016
330-335	0,048	0,049	0,026	0,023
335-340	0,035	0,036	0,036	0,033
340-345	0,029	0,031	0,042	0,039
345-350	0,020	0,021	0,050	0,047
350-355	0,015	0,016	0,057	0,054
355-360	0,010	0,011	0,062	0,060
360-365	0,010	0,011	0,066	0,064
365-370	0,033	0,038	0,107	0,106
370-375	0,004	0,005	0,067	0,067
375-380	0,003	0,004	0,064	0,065
380-385	0,003	0,003	0,060	0,062
385-390	0,001	0,001	0,056	0,058
390-395	0,001	0,001	0,050	0,053
395-400	0,001	0,001	0,044	0,047
400-405	0,000	0	0,039	0,042
405-410	0,060	0,075	0,088	0,097
410-415	0,002	0,002	0,035	0,039
Summe	1,000	1,000	1,000	1,000

Anhang 9: Berechnung der Strahlungsintensität I_0 durch Wichtung der Konstante k aus der linearen Regressionsanalyse der Zersetzung der Aktinometer-Lösung nach einem Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung.

$$I_0 = k \cdot d_{\text{mittel}}^{-1} \cdot \chi^{-1} \cdot \varphi_A^{-1} \cdot w$$

ε_{254} : 4890 mol⁻¹·L·cm⁻¹, ε_{311} : 2826 mol⁻¹·L·cm⁻¹, ε_{366} : 877 mol⁻¹·L·cm⁻¹, ε_{405} : 320 mol⁻¹·L·cm⁻¹

$d_{\text{PTFE-mittel}}$: 0,175 mm; $d_{\text{ETFE-mittel}}$: 0,196 mm (mittlere Schichtdicke)

k : Geschwindigkeitskonstante [1/s]

χ : Natürlicher molarer Absorptionskoeffizient (2,3· ε) [mol⁻¹·L·cm⁻¹]

φ_A : Quantenausbeute: 1,2

UV-C-Strahler:

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission (Herstellerangaben) energiebezogen	Anteil der Emission (Herstellerangaben) teilchenbezogen	Anteil der Absorption (UV-Spektren der Aktinometer-Lösung)	Wichtungsfaktor w	<i>PTFE</i> $I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]	<i>ETFE</i> $I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]
254	0,776	0,711	0,555	0,903	0,00089	0,00069
311	0,091	0,102	0,321	0,075	0,00013	0,00010
366	0,050	0,066	0,099	0,015	0,00008	0,00006
405	0,083	0,121	0,025	0,007	0,00011	0,00008
Summe	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00121	0,00093

UV-B-Strahler:

Wellen- länge [nm]	Anteil der Emission (teilchen- bezogen)	Anteil der Absorption (UV- Spektren)	Wichtungs- faktor w	ϵ_{mittel} des Wellenlängen- bereichs [mol ⁻¹ ·L·cm ⁻¹]	<i>PTFE</i> $I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]	<i>ETFE</i> $I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]
270-275	0,002	0,078	0,004	4082	0,00000101	0,00000094
275-280	0,005	0,075	0,009	3925	0,00000237	0,00000220
280-285	0,012	0,071	0,020	3716	0,00000557	0,00000517
285-290	0,028	0,067	0,044	3506	0,00001299	0,00001206
290-295	0,036	0,064	0,054	3349	0,00001669	0,00001550
295-300	0,058	0,061	0,082	3192	0,00002659	0,00002469
300-305	0,079	0,057	0,105	2983	0,00003644	0,00003384
305-310	0,091	0,054	0,114	2826	0,00004176	0,00003878
310-315	0,115	0,051	0,137	2669	0,00005314	0,00004934
315-320	0,104	0,047	0,114	2460	0,00004797	0,00004455
320-325	0,103	0,043	0,103	2250	0,00004739	0,00004400
325-330	0,062	0,040	0,058	2093	0,00002869	0,00002664
330-335	0,049	0,037	0,042	1936	0,00002246	0,00002085
335-340	0,036	0,034	0,028	1779	0,00001629	0,00001513
340-345	0,031	0,031	0,022	1622	0,00001404	0,00001304
345-350	0,021	0,029	0,014	1518	0,00000955	0,00000887
350-355	0,016	0,026	0,010	1361	0,00000761	0,00000706
355-360	0,011	0,024	0,006	1256	0,00000495	0,00000459
360-365	0,011	0,021	0,005	1099	0,00000471	0,00000437
365-370	0,038	0,018	0,016	942	0,00001758	0,00001633
370-375	0,005	0,016	0,002	837	0,00000247	0,00000230
375-380	0,004	0,013	0,001	680	0,00000152	0,00000141
380-385	0,003	0,011	0,001	576	0,00000180	0,00000167
385-390	0,001	0,010	0,000	523	0,00000000	0,00000000
390-395	0,001	0,008	0,000	419	0,00000000	0,00000000
395-400	0,001	0,006	0,000	314	0,00000000	0,00000000
400-405	0	0	0,000	0		
405-410	0,075	0,005	0,009	262	0,00003556	0,00003302
410-415	0,002	0,003	0,000	157	0,00000000	0,00000000
Summe	1,000	1,000	1,000		0,00046	0,00043

UV-A-Strahler:

Wellen- länge [nm]	Anteil der Emission (teilchen- bezogen)	Anteil der Absorption (UV- Spektren)	Wichtungs- faktor w	ϵ_{mittel} des Wellenlängen- bereichs [$\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$]	<i>PTFE</i> $I_{0\lambda}$ [$\text{Es} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]	<i>ETFE</i> $I_{0\lambda}$ [$\text{Es} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]
305-310	0,001	0,101	0,003	2826	0,000000462	0,000000333
310-315	0,003	0,095	0,009	2669	0,000001466	0,000001058
315-320	0,014	0,088	0,038	2460	0,000006716	0,000004858
320-325	0,010	0,081	0,025	2250	0,000004831	0,000003492
325-330	0,016	0,075	0,037	2093	0,000007686	0,000005558
330-335	0,023	0,069	0,049	1936	0,000011004	0,000007950
335-340	0,033	0,064	0,065	1779	0,000015886	0,000011483
340-345	0,039	0,059	0,071	1622	0,000019032	0,000013758
345-350	0,047	0,054	0,079	1518	0,000022627	0,000016358
350-355	0,054	0,050	0,083	1361	0,000026515	0,000019167
355-360	0,060	0,045	0,084	1256	0,000029078	0,000021017
360-365	0,064	0,039	0,077	1099	0,000030462	0,000022017
365-370	0,106	0,034	0,112	942	0,000051694	0,000037367
370-375	0,067	0,029	0,060	837	0,000031167	0,000022525
375-380	0,065	0,025	0,051	680	0,000032609	0,000023567
380-385	0,062	0,021	0,041	576	0,000030948	0,000022367
385-390	0,058	0,018	0,033	523	0,000027434	0,000019825
390-395	0,053	0,015	0,024	419	0,000024904	0,000018000
395-400	0,047	0,012	0,018	314	0,000024924	0,000018017
400-405	0,042	0,010	0,013	0		0,000000000
405-410	0,097	0,008	0,023	262	0,000038168	0,000027583
410-415	0,039	0,006	0,007	157	0,000019385	0,000014008
Summe	1,000	1,000	1,000		0,00047	0,00033

Anhang 10: Standardsonne nach COLIPA [106] und Umrechnung der Bestrahlungsstärken [$\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$] in den Photonenfluss [$\text{Es s}^{-2}\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$]

Wellenlänge [nm]	Bestrahlungs- stärke [$\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$]	Photonenfluss [$\text{Es s}^{-2}\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$]
290	3,09E-04	7,49E-16
292	2,85E-03	6,95E-15
294	2,92E-02	7,17E-14
296	0,128	3,17E-13
298	0,337	8,39E-13
300	0,864	2,17E-12
302	0,236	5,95E-13
304	4,35	1,10E-11
306	7,19	1,84E-11
308	9,68	2,49E-11
310	13,4	3,47E-11
312	17,5	4,56E-11
314	21,3	5,59E-11
316	24,3	6,42E-11
318	27,9	7,41E-11
320	31,4	8,39E-11
322	33,2	8,93E-11
324	36,1	9,77E-11
326	44,5	1,21E-10
328	50,1	1,37E-10
330	53,2	1,47E-10
332	53,3	1,48E-10
334	52,3	1,46E-10
336	50,4	1,41E-10
338	49,9	1,41E-10
340	53,9	1,53E-10
342	55,9	1,60E-10
344	53,5	1,54E-10
346	53,4	1,54E-10
348	53,7	1,56E-10
350	55,9	1,63E-10

Wellenlänge [nm]	Bestrahlungs- stärke [$\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$]	Photonenfluss [$\text{Es s}^{-2}\text{cm}^{-2}\cdot\text{nm}^{-1}$]
352	58,9	1,73E-10
354	61,3	1,81E-10
356	60,6	1,80E-10
358	53,8	1,61E-10
360	56,4	1,70E-10
362	60	1,81E-10
364	64,8	1,97E-10
366	71,8	2,20E-10
368	76,2	2,34E-10
370	76,6	2,37E-10
372	75	2,33E-10
374	66,1	2,07E-10
376	66,6	2,09E-10
378	74,6	2,36E-10
380	75,4	2,39E-10
382	64,2	2,05E-10
384	58,5	1,88E-10
386	62,6	2,02E-10
388	67,2	2,18E-10
390	75,7	2,47E-10
392	71,6	2,34E-10
394	65,5	2,16E-10
396	68,1	2,25E-10
398	80,1	2,66E-10
400	101	3,38E-10

Anhang 11: Anteilige Verteilung der Strahlungsintensitäten pro 20 µL auf die Wellenlängenbereiche.

Wellen- länge [nm]	Anteil der Emission UV-B (berechnet) teilchen- bezogen	Strahlungs- intensitäten UV-B [Es/s]	Anteil der Emission UV-A (berechnet) teilchen- bezogen	Strahlungs- intensitäten UV-A [Es/s]
270-275	0,002	1,72E-11		
275-280	0,005	4,3E-11		
280-285	0,012	1,032E-10		
285-290	0,028	2,408E-10		
290-295	0,036	3,096E-10		
295-300	0,058	4,988E-10		
300-305	0,079	6,794E-10		
305-310	0,091	7,826E-10	0,001	6,6E-12
310-315	0,115	9,89E-10	0,003	1,98E-11
315-320	0,104	8,944E-10	0,014	9,24E-11
320-325	0,103	8,858E-10	0,010	6,6E-11
325-330	0,062	5,332E-10	0,016	1,056E-10
330-335	0,049	4,214E-10	0,023	1,518E-10
335-340	0,036	3,096E-10	0,033	2,178E-10
340-345	0,031	2,666E-10	0,039	2,574E-10
345-350	0,021	1,806E-10	0,047	3,102E-10
350-355	0,016	1,376E-10	0,054	3,564E-10
355-360	0,011	9,46E-11	0,060	3,96E-10
360-365	0,011	9,46E-11	0,064	4,224E-10
365-370	0,038	3,268E-10	0,106	6,996E-10
370-375	0,005	4,3E-11	0,067	4,422E-10
375-380	0,004	3,44E-11	0,065	4,29E-10
380-385	0,003	2,58E-11	0,062	4,092E-10
385-390	0,001	8,6E-12	0,058	3,828E-10
390-395	0,001	8,6E-12	0,053	3,498E-10
395-400	0,001	8,6E-12	0,047	3,102E-10
400-405	0	0	0,042	2,772E-10
405-410	0,075	6,45E-10	0,097	6,402E-10
410-415	0,002	1,72E-11	0,039	2,574E-10
Summe	1,000	8,6E-09	1,000	6,6E-09

Anhang 12: PABA-AREA % (Mittelwerte der Flächen dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100) nach UV-C- und UV-B-Bestrahlung unter Variation der mobilen Phase und der Expositionszeit; ($n = 3$).

ETFE-Kapillare: $l = 5$ m, $ID = 0,257$ mm)

UV-C

	pH = 7 Acetonitril/ Acetat-- Lösung pH = 7,0 (10:90 v/v)		pH = 5,5 Acetonitril/ Acetat- Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)		pH = 3,7 Acetonitril/ Acetat- Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	
Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)
0	100,0	0,50	100,0	0,68	100,0	1,03
31,1	74,9	1,00	82,3	2,26	88,6	1,44
61,1	57,1	1,10	66,4	0,81		
91,1	42,1	0,51	53,2	0,82		
121,1	31,2	0,25	45,7	1,36		
151,1	24,3	0,64	37,2	1,04	69,2	0,74
271,1					51,2	0,80
391,1					35,9	0,17
511,1					25,3	0,47

	pH = 7 Acetonitril/ Phosphat- Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)		pH = 5,5 Methanol/ Acetat- Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)		pH = 2,5 Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	
Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)
0	100,0	0,70	100,0	0,88	100,0	1,55
31,1	75,4	1,05	81,5	1,16	99,5	0,50
61,1	54,3	0,75	67,5	0,71		
91,1	42,1	0,41	53,4	0,93		
121,1	30,2	0,85	44,9	0,86		
151,1	25,4	0,74	35,2	1,28	94,8	0,76
271,1					90,5	1,50
391,1					85,1	0,23
511,1					84,7	0,82

UV-B

	pH = 7 Acetonitril/ Acetat- Lösung pH = 7,0 (10:90 v/v)		pH = 5,5 Acetonitril/ Acetat- Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)		pH = 3,7 Acetonitril/ Acetat- Pufferlösung pH = 3,7 (10:90 v/v)	
Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)
0	100,0	0,58	100,0	0,88	100,0	0,953
61,1	95,1	0,12	96,3	0,25		
121,1	90,1	0,52	91,3	0,86		
511,1	65,1	0,78	68,0	0,57	89,2	0,69
991,1	42,3	0,87	47,2	1,27	83,3	0,76
1471,1					77,4	0,81
1831,1						
1951,1	19,18	0,80	23,0	0,45	66,8	0,35
2911,1					50,3	0,58

	pH = 7 Acetonitril/ Phosphat- Pufferlösung pH = 7,0 (10:90 v/v)		pH = 5,5 Methanol/ Acetat- Pufferlösung pH = 5,5 (10:90 v/v)		pH = 2,5 Acetonitril/ Perchlorsäure-Lösung pH = 2,5 (30:70 v/v)	
Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)
0	100,0	0,48	100,0	0,88	100,0	1,05
61,1	94,3	0,22	94,3	0,95		
121,1	90,3	0,89	91,3	0,86		
511,1	66,1	0,98	71,0	1,57	98,3	0,57
991,1	41,3	1,07	49,2	0,87		
1471,1						
1831,1					95,7	0,50
1951,1	17,2	1,80	22,0	0,95		
2911,1						
3631,1					91,8	1,19
7231,1					84,8	0,59

Anhang 13: PABA-AREA % (Mittelwerte der Flächen ($n = 3$) dividiert durch die Mittelwerte der Flächen bei $T_{hv} = 0$, multipliziert mit dem Faktor 100) nach UV-C-Bestrahlung unter Variation der Aufgabemassen und der Expositionszeit.

Fließmittel: Acetonitril/ Acetat-Pufferlösung $pH = 5,5$ (10:90 v/v)

ETFE-Kapillare: $l = 5 \text{ m}$, $ID = 0,257 \text{ mm}$

Bestrahlungszeit T_{hv} [s]	Aufgabemasse: 10 ng		Aufgabemasse: 20 ng		Aufgabemasse: 50 ng	
	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)	AREA %	sdv (AREA %)
0	100,0	0,58	100,0	0,68	100	0,55
31,1	84,3	0,48	82,3	2,26	85,0	0,45
61,1	65,2	0,65	66,4	0,81	67,1	1,02
91,1	51,6	0,75	53,2	0,83	54,5	1,02
121,1	44,0	0,88	45,7	1,36	48,9	0,89
151,1	36,5	0,98	37,2	1,04	38,2	0,56

Anhang 14: PABA: Berechnung von k/φ bei verschiedenen pH -Werten unter Berücksichtigung der "Schnittstellen" des Absorptionsspektrums der PABA mit der Spektralflußverteilung des UV-C-Strahlers

$I_{0\lambda \text{ UV-C}} = 0,00095 \text{ Es} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

$d_{\text{ETFE-mittel}} : 0,202 \text{ mm}$

UV-C; pH -Wert 7,0

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission	$I_{0\lambda}$ [Es \cdot L $^{-1}\cdot$ s $^{-1}$]	ϵ_{λ^-} PABA [mol $^{-1}\cdot$ L \cdot cm $^{-1}$]	$k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s $^{-1}$]
254	0,711	0,00068	11312	0,3550
311	0,102	0,00010	322	0,0014
Summe				0,3564

UV-C; pH -Wert 5.5

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission	$I_{0\lambda}$ [Es \cdot L $^{-1}\cdot$ s $^{-1}$]	ϵ_{λ^-} PABA [mol $^{-1}\cdot$ L \cdot cm $^{-1}$]	$k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s $^{-1}$]
254	0,711	0,00068	9730	0,3053
311	0,102	0,00010	1240	0,0056
Summe				0,3109

UV-C; pH-Wert 3,7

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission	$I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ ·L·cm ⁻¹]	$k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹]
254	0,711	0,00068	5633	0,1768
311	0,102	0,00010	4689	0,0211
Summe				0,1979

UV-C; pH-Wert 2,5

Wellenlänge [nm]	Anteil der Emission	$I_{0\lambda}$ [Es·L ⁻¹ ·s ⁻¹]	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ ·L·cm ⁻¹]	$k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹]
254	0,711	0,00068	2499	0,0784
311	0,102	0,00010	2069	0,0093
Summe				0,0877

Anhang 15: PABA: Berechnung von $k/\varphi = I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ bei verschiedenen pH-Werten in 5 nm Abschnitten (UV-B);

$I_{0\lambda \text{ UV-B}} = 0,00043 \text{ Es} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (bis 355 nm: $0,00037 \text{ Es} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$);

$d_{\text{ETFE-mittel}} : 0,202$ (ETFE-Kapillare: $ID = 0,257 \text{ mm}$)

Wellenlänge [nm]	$I_{0\lambda}$ [Es · L ⁻¹ · s ⁻¹]	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ ·L·cm ⁻¹] pH = 7	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹] pH = 7	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ ·L·cm ⁻¹] pH = 5,5	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹] pH = 5,5
270-275	0,00000086	14364	0,00057392	12853	0,00051355
275-280	0,00000215	12936	0,00129216	12018	0,00120047
280-285	0,00000516	10906	0,00261453	10769	0,00258169
285-290	0,00001204	8568	0,00479275	9080	0,00507916
290-295	0,00001548	6188	0,00445041	7258	0,00521996
295-300	0,00002494	4088	0,00473682	5369	0,00622113
300-305	0,00003397	2296	0,00362365	3622	0,00571641
305-310	0,00003913	980	0,00178162	2213	0,00402319
310-315	0,00004945	322	0,00073978	1240	0,00284883
315-320	0,00004472	70	0,00014544	618	0,00128401
320-325	0,00004429	14	2,8808E-05	284	0,00058439
325-330	0,00002666			120	0,00014863
330-335	0,00002107			53	5,1882E-05
335-340	0,00001548				
340-345	0,00001333				
345-350	0,00000903				
350-355	0,00000688				
SUMME	0,00037		0,02478		0,03527

Teil 2:

Wellenlänge [nm]	$I_{0\lambda}$ [Es · L ⁻¹ · s ⁻¹]	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ · L · cm ⁻¹] pH = 3,7	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹] pH = 3,7	ϵ_{λ^-} PABA [mol ⁻¹ · L · cm ⁻¹] pH = 2,5	$I_0 \cdot \chi \cdot d_{\text{mittel}}$ [s ⁻¹] pH = 2,5
270-275	0,00000086	7222	0,00028856	5119	0,00020453
275-280	0,00000215	9924	0,0009913	5626	0,00056198
280-285	0,00000516	11840	0,00283845	5927	0,0014209
285-290	0,00001204	12884	0,00720703	6041	0,0033792
290-295	0,00001548	12853	0,00924389	5782	0,00415842
295-300	0,00002494	12018	0,01392541	5220	0,00604848
300-305	0,00003397	10769	0,01699613	4267	0,00673438
305-310	0,00003913	9080	0,01650726	3157	0,00573936
310-315	0,00004945	7258	0,01667487	2068	0,00475112
315-320	0,00004472	5369	0,01115512	1166	0,00242259
320-325	0,00004429	3622	0,00745304	549	0,00112968
325-330	0,00002666	2213	0,00274107	265	0,00032824
330-335	0,00002107	1240	0,00121385	118	0,00011551
335-340	0,00001548	618	0,00044447		
340-345	0,00001333	284	0,00017588		
345-350	0,00000903	120	5,0344E-05		
350-355	0,00000688	53	1,6941E-05		
SUMME	0,00037		0,10328		0,03655

Anhang 16: Fließinjektionsanalyse der PABA und PAABA: Abhängigkeit der Peakhöhe der Signale von der Bestrahlungszeit und dem pH-Wert

PABA:

pH-Wert	t_{max} [min]	I_{max} [nm] bei +600 mV	I_{max} [nm] bei +800 mV
2,5	16	5,8	7,5
5,5	3,5	37	48
7,0	3,5	94	133

PAABA:

pH-Wert	t_{max} [min]	I_{max} [nm] bei +600 mV	I_{max} [nm] bei +800 mV
2,5	16	2	3
5,5	3,5	9	17
7,0	3,5	20	41

Anhang 17: Empfindlichkeiten der Signale (Peakhöhe/Konzentration) der PABA und PAABA nach Bestrahlung nach der Trennsäule (RP-18) bei verschiedenen Konzentrationen und Arbeitspotentialen.

Fett: Abnahme der Empfindlichkeiten auf unter 90% des vorangegangenen Wertes.

Teil 1:

Konzentra- tion [μmol/L]	Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] U _{pol} = +600 mV		Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] U _{pol} = +800 mV		Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] U _{pol} = +600 mV	
	PABA	PAABA	PAABA	PAABA	PABA	PAABA
1000	0,048	0,036	0,102	0,066	0,333	0,084
	0,048	0,036	0,102	0,064	0,324	0,086
	0,047	0,034	0,101	0,064	0,320	0,085
750	0,056	0,045	0,126	0,081	0,415	0,103
	0,052	0,041	0,129	0,079	0,405	0,098
	0,055	0,042	0,125	0,077	0,405	0,100
500	0,072	0,055	0,161	0,111	0,559	0,140
	0,071	0,054	0,171	0,105	0,541	0,138
	0,073	0,056	0,165	0,108	0,536	0,135
250	0,123	0,082	0,229	0,176	0,931	0,216
	0,127	0,084	0,225	0,170	0,904	0,218
	0,134	0,086	0,216	0,174	0,902	0,210
125	0,200	0,110	0,344	0,226	1,269	0,253
	0,191	0,108	0,336	0,228	1,234	0,245
	0,195	0,109	0,330	0,225	1,221	0,254
62,5	0,264	0,115	0,546	0,258	1,630	0,320
	0,274	0,117	0,542	0,253	1,568	0,322
	0,269	0,114	0,520	0,248	1,518	0,322
46,88	0,282	0,103	0,617	0,254	1,799	0,349
	0,292	0,106	0,593	0,260	1,756	0,350
	0,288	0,107	0,587	0,258	1,720	0,339
35,26	0,306	0,100	0,649	0,240	1,713	0,393
	0,306	0,111	0,631	0,245	1,664	0,375
	0,299	0,112	0,634	0,242	1,658	0,373
20,0	0,323	0,113	0,735	0,270	2,060	0,410
	0,300	0,118	0,755	0,240	2,020	0,380
	0,310	0,115	0,740	0,255	2,075	0,388
14,06	0,334	0,114	0,732	0,242	2,055	0,370
	0,309	0,121	0,747	0,249	2,020	0,363
	0,327	0,110	0,725	0,263	1,948	0,356
7,03	0,313	0,117	0,768	0,327	2,489	0,363
	0,292	0,111	0,796	0,270	2,446	0,348
	0,296	0,111	0,796	0,256	2,389	0,356

Teil 2:

Konzentra- tion [μmol/L]	Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] Upol = +600 mV		Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] Upol = +800 mV		Empfindlichkeit [nA·μM ⁻¹ ·L] Upol = +600 mV	
	PABA	PAABA	PAABA	PAABA	PABA	PAABA
1,76	0,313	0,114	0,854	0,398	4,126	0,427
	0,330	0,108	0,797	0,455	3,728	0,455
	0,313	0,102	0,854	0,398	3,899	0,370
1,00	0,350	0,100	0,800	0,450	3,200	0,450
	0,400	0,150	0,750	0,400	3,300	0,550
	0,450	0,100	0,800	0,420	3,300	0,450
0,488	0,369	0,102	0,717		3,176	
	0,430	0,082	0,820		2,869	
	0,369	0,041	0,717		2,869	
0,244	0,410				3,279	
	0,574				2,869	
	0,328				2,664	

Anhang 18: UVD: Signale (Peakhöhe) der PABA und PAABA nach Bestrahlung nach der Trennsäule (RP-18) bei verschiedenen Konzentrationen.

Teil 1:

Konzentra- tion [μmol/L]	PABA - ohne Kapillare	PAABA - ohne Kapillare	PABA - mit Kapillare - Lampe aus	PAABA - mit Kapillare - Lampe aus	PABA - mit Kapillare - Lampe an	PAABA - mit Kapillare - Lampe an
1000	201,46	278,96	132,56	182,46	90,57	85,24
	201,90	279,56	133,66	183,27	89,56	84,40
	202,47	282,64	135,88	184,32	88,58	84,86
750	152,27	210,46	100,45	138,67	66,90	60,48
	148,20	205,89	102,90	133,32	65,85	59,47
	150,36	208,46	99,20	135,03	66,30	62,32
500	98,68	140,50	65,08	87,45	43,01	40,46
	99,59	138,96	66,59	88,98	43,44	38,94
	99,75	139,65	65,80	91,74	42,34	41,37
250	49,75	70,58	34,98	45,27	20,03	17,61
	51,33	68,59	33,05	44,16	19,83	17,23
	50,24	69,85	33,06	46,36	19,47	17,55
125	24,88	36,03	17,13	23,56	8,84	9,12
	25,21	35,81	16,64	23,26	8,65	9,14
	25,10	35,17	16,68	23,16	9,00	8,94

Teil2:

Konzentra- tion [µmol/L]	PABA - ohne Kapillare	PAABA - ohne Kapillare	PABA - mit Kapillare - Lampe aus	PAABA - mit Kapillare - Lampe aus	PABA - mit Kapillare - Lampe an	PAABA - mit Kapillare - Lampe an
62,5	12,65	17,56	8,35	11,46	4,43	4,31
	12,59	17,33	8,31	11,66	4,32	4,18
	12,62	17,26	8,46	11,55	4,25	4,24
46,88	9,78	12,97	6,33	8,56	3,30	3,09
	9,86	12,92	6,31	8,65	3,35	3,18
	9,62	12,94	6,21	8,54	3,26	3,18
35,26	7,16	9,78	4,77	6,59	2,56	2,56
	7,24	9,86	4,80	6,49	2,44	2,45
	7,26	9,73	4,87	6,73	2,45	2,39
20,0	4,28	6,04	2,82	3,98	1,48	1,53
	4,38	5,82	2,75	4,00	1,49	1,53
	4,23	5,85	2,66	3,86	1,53	1,48
14,06	2,89	3,82	1,86	2,52	0,91	0,95
	2,93	4,13	1,93	2,64	0,92	0,98
	2,83	3,91	1,89	2,51	1,02	0,96
7,03	1,40	1,94	0,93	1,28	0,47	0,52
	1,46	1,88	0,97	1,32	0,49	0,53
	1,47	1,91	0,94	1,36	0,48	0,49
1,76	0,36	0,47	0,24	0,33	0,13	0,14
	0,35	0,46	0,25	0,34	0,14	0,14
	0,36	0,46	0,23	0,31	0,13	0,10
1,00	0,20	0,25	0,13	0,18	0,07	0,07
	0,20	0,26	0,13	0,17	0,06	0,06
	0,20	0,26	0,13	0,15	0,07	0,06
0,488	0,08	0,13	0,06	0,06		
	0,10	0,11	0,04	0,06		
	0,11	0,10	0,06	0,05		
0,244	0,05	0,06				
	0,06	0,06				
	0,04	0,06				
0,122	0,02	0,02				
	0,03	0,03				
	0,03	0,03				

Anhang 19: Kalibrierung. ECD: Signale (Peakhöhe/nA) der PABA und PAABA nach Bestrahlung nach der Trennsäule (RP-18) bei verschiedenen Konzentrationen

Konz. [$\mu\text{mol/L}$]	Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4	
	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA
35,6	10,25	3,65	10,2	3,75	8,75	3,38	7,75	2,75
	10,3	3,7	10,4	3,73	8,9	3,45	8	2,65
	10,25	3,7	10,25	3,82	9	3,4	8,25	2,75
	10,4	3,75	10,4	3,7	8,8	3,38	8,25	3
	10,3	3,63	10,35	3,74	9	3,5	8	3
	10,5	3,75	10,3	3,75	8,75	3,35	7,75	2,75
21,4	6,55	2,25	6	2,25	5,25	2	4,75	1,65
	6,25	2,2	6,05	2,2	5,1	1,85	4,7	1,7
	6,4	2,3	5,9	2,15	5,2	1,9	4,55	1,65
	6,45	2,3	6,1	2,15	5,35	1,9	4,7	1,75
	6,4	2,15	6	2,2	5,25	1,85	4,6	1,8
	6,3	2,25	6,2	2,2	5,1	1,9	4,8	1,75
14,3	4,7	1,6	4,2	1,6	3,8	1,35	3,4	1,25
	4,5	1,7	4,2	1,55	3,9	1,4	3,35	1,3
	4,6	1,6	4,35	1,65	3,8	1,45	3,35	1,25
	4,4	1,7	4,35	1,6	3,75	1,35	3,45	1,2
	4,5	1,6	4,4	1,58	3,7	1,35	3,5	1,15
	4,35	1,65	4,1	1,55	3,9	1,4	3,2	1,15
7,15	2,25	0,82	2,2	0,7	1,75	0,65	1,6	0,6
	2,3	0,78	2,15	0,73	1,8	0,65	1,625	0,525
	2,3	0,78	2,2	0,65	1,85	0,72	1,575	0,575
	2,15	0,82	2,1	0,75	1,75	0,65	1,55	0,5625
	2,3	0,73	2	0,73	1,75	0,75	1,6	0,625
	2,15	0,78	2,1	0,7	1,7	0,72	1,525	0,525
1,79	0,50	0,25	0,40	0,19	0,48	0,22	0,42	0,15
	0,63	0,18	0,50	0,15	0,45	0,19	0,41	0,13
	0,56	0,2	0,55	0,22	0,40	0,14	0,39	0,13
	0,60	0,15	0,42	0,175	0,42	0,15	0,38	0,15
	0,61	0,16	0,45	0,18	0,40	0,17	0,40	0,16
	0,50	0,17	0,55	0,2	0,44	0,21	0,43	0,14

Anhang 20: Kalibrierung. UVD: Signale (Peakhöhe) der PABA und PAABA nach Bestrahlung nach der Trennsäule (RP-18) bei verschiedenen Konzentrationen (umgerechnet auf range 0,02)

Konz. [$\mu\text{mol/L}$]	Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4	
	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA	PABA	PAABA
35,6	2,46	2,32	2,33	2,3	2,4	2,14	2,35	2,25
	2,45	2,3	2,35	2,29	2,35	2,1	2,33	2,25
	2,44	2,32	2,36	2,27	2,33	2,1	2,32	2,24
	2,48	2,35	2,34	2,28	2,36	2,15	2,31	2,22
	2,47	2,3	2,35	2,29	2,35	2,15	2,3	2,23
	2,44	2,3	2,4	2,3	2,4	2,17	2,3	2,3
21,4	1,5	1,45	1,45	1,4	1,48	1,38	1,45	1,38
	1,48	1,41	1,43	1,41	1,45	1,35	1,47	1,35
	1,49	1,42	1,42	1,42	1,5	1,38	1,44	1,38
	1,47	1,44	1,44	1,43	1,45	1,35	1,46	1,35
	1,48	1,43	1,44	1,43	1,52	1,4	1,46	1,4
	1,47	1,42	1,43	1,42	1,5	1,4	1,47	1,4
14,3	1	0,95	1	0,95	1	0,94	1	0,94
	0,99	0,92	0,95	0,92	1,06	0,9	0,95	0,9
	0,99	0,91	0,94	0,91	1,05	0,92	0,99	0,92
	0,98	0,93	0,96	0,93	1,05	0,9	0,98	0,9
	1,02	0,94	0,95	0,94	1,06	0,9	0,94	0,9
	1	0,94	0,95	0,94	1	0,92	0,99	0,92
7,15	0,5	0,48	0,5	0,48	0,52	0,46	0,5	0,46
	0,48	0,45	0,47	0,45	0,5	0,43	0,48	0,43
	0,52	0,47	0,46	0,47	0,52	0,42	0,45	0,42
	0,49	0,46	0,45	0,46	0,51	0,45	0,44	0,45
	0,53	0,45	0,48	0,45	0,54	0,47	0,49	0,47
	0,5	0,45	0,47	0,45	0,55	0,45	0,5	0,45
1,79	0,12	0,11	0,12	0,13	0,13	0,10	0,08	0,07
	0,13	0,12	0,11	0,11	0,16	0,09	0,11	0,09
	0,14	0,12	0,11	0,12	0,12	0,08	0,12	0,08
	0,14	0,11	0,12	0,11	0,13	0,11	0,10	0,11
	0,13	0,13	0,13	0,12	0,15	0,10	0,09	0,10
	0,12	0,14	0,13	0,12	0,12	0,13	0,09	0,07

7 SYMBOLE UND ABKÜRZUNGEN

A:	Entfernung zwischen der durch das Maximum des Peaks gezogenen Senkrechten und dem aufsteigenden Kurvenast bei einem Zwanzigstel der Peakhöhe
b:	Achsenabschnitt
$b_{0,05}$:	Peakbreite bei einem Zwanzigstel der Peakhöhe
c:	Lichtgeschwindigkeit
c:	Konzentration
c_A :	Konzentration des Analyten
c_0 :	Konzentration zur Zeit $t = 0$ s
c_t :	Konzentration zur Zeit t
c^0 :	ursprüngliche Konzentration der injizierten Probe
$c^{\max.}$:	Konzentration im Volumenelement der dispergierten Probenzone, das dem Signalmaximum entspricht
χ :	Natürlicher molarer Absorptionskoeffizient
COLIPA:	European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association)
CTFA:	Cosmetic Toiletries and Fragrance Association
D, d:	Schichtdicke
D:	Dispersionskoeffizient
D_{diff} :	Diffusionskoeffizient
d:	Durchmesser
d_{mittel} :	mittlerer Durchmesser
DNA:	Desoxyribunukleinsäure
E:	Empfindlichkeit
EAB:	Europäisches Arzneibuch
A_λ :	Absorption
A'_λ :	Absorption' ($2,3 \cdot E_\lambda$)
E_p :	Photonenflux (Bestrahlungsstärke in Einstein)
ε :	molarer Absorptionskoeffizient
ECD:	Elektrochemische Detektion, Elektrochemischer Detektor
Es:	Einstein, mol Photonen
ESR:	Elektronenspinresonanzspektroskopie
ETFE:	Ethyltetrafluorethylen
EU:	Europäische Union

F :	Fließgeschwindigkeit
f :	Freiheitsgrad
FIA:	Fliessinjektionsanalyse
GC:	Gaschromatographie
Φ :	integrale Quantenausbeute
φ :	differentielle Quantenausbeute
h :	Plancksches Wirkungsquantum
HPLC:	Hochdruckflüssigkeitschromatographie, Hochleistungsflüssigkeits Chromatographie
ICH:	International Conference on Harmonisation
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IUPAC:	International Union of Pure and Applied Chemistry
I_{abs} :	absorbierter Quantenstrom (Flux) - absorbierte Strahlungsintensität
I_a :	absorbierte Quantenstromkonzentration - „Quantenstromdichte“
I_0 :	eingestrahlte Quantenstromkonzentration - „Quantenstromdichte“
ID :	Innendurchmesser
κ :	Korrekturfaktor
λ :	Wellenlänge
l :	Länge der Strecke. Länge der Reaktionskapillare
LC:	Flüssigkeitschromatographie
m :	Steigung der Geraden
MS:	Massenspektrometrie
NMR:	Kernresonanzspektroskopie
N_i :	Loschmidt-Zahl
n :	Stoffmenge
n_a :	Anzahl umgesetzter Moleküle
n_Q :	Anzahl absorbierter Lichtquanten
P :	Wahrscheinlichkeit (zweiseitige Fragestellung)
\bar{P} :	Wahrscheinlichkeit (einseitige Fragestellung)
PAABA:	<i>p</i> -Acetamidobenzoessäure
PABA	<i>p</i> -Aminobenzoessäure
PTFE:	Polytetrafluorethylen
R :	Prüfgröße für den Test nach David: Spannweite der Stichprobe
r :	Radius der Röhre. Radius der Reaktionskapillare
rel. sdv(y):	relative Standardabweichung
SA:	Standardabweichung der Stichprobe

SCC:	Scientific Committee for Cosmeteology
S_0 :	Grundzustand
1S :	Erster angeregter Zustand
3S :	Triplettzustand
S_s :	Symmetriefaktor (tailing-Faktor)
σ^2 :	Peakvarianz
$\Delta\sigma_v^2$:	: Varianz des Volumens
sdv(y):	Standardabweichung
t :	Zeit
T :	mittlere Verweilzeit
T_0 :	Verweilzeit ohne Integration der Kapillare
T_{Ges} :	Verweilzeit mit Reaktionskapillare
T_{hv} :	Bestrahlungszeit
t_R :	Retentionszeit
T_{stop} :	Zeit des Unterbrechens der Pumpentätigkeit
T_{theo} :	theoretische Bestrahlungszeit
t' :	Differenz $T_{max} - t_e$
T_{max} :	Zeit, die dem Peakmaximum entspricht
T_{min} :	Zeit nach der ein Bolus mindestens die Reaktionsschleife erreicht hat
t_e :	Zeit des Eintreffen des Bolus
$t_{1/2}$:	Halbwertszeit
Δt :	Zeit, die der Bolus benötigt, um den Detektor zu passieren
u :	lineare Fließgeschwindigkeit
U_{pol} :	Polarisationsspannung
UVD	UV-Detektion. UV-Detektor
V_i :	Injektionsvolumen
V :	Volumen
V_{hv} :	bestrahltes Volumen
V_0 :	Volumen ohne Integration der Kapillaren
V_R :	Reaktionsvolumen
vgl:	vergleiche
ν :	Frequenz
y :	Mittelwert (arithmetisch)

8 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Brodie, B.B.; Udenfried, S.; Dill, W.; Cheukin, T.; *J. Biol. Chem.* **168** (1947) 319-322
- [2] Goodyear, J.M.; Jenkinson, H. R.; *Anal. Chem.* **32** (1960) 1203-1208
- [3] Iwaoka, W.; Tannenbaum, S.R.; *I.A.R.C. Sci. Publ.* **14** (1976) 51-55
- [4] Twitchett, P.J.; Williams, P.L.; Moffat, A.C.; *J. Chromatogr.* **149** (1978) 683- 685
- [5] Becker, H.G.O.; Böttcher, H; Dietz, F.; Rehorek, D.; Roewer, G.; Schiller, K.; Timpe, H.J.; *Einführung in die Photochemie*; Becker, H.G.O. (ed.), 3. Auflage, Berlin, Deutscher Verlag der Wissenschaften (1991)
- [6] Krull, I.S.; Selavka, C.M.; Duda, C.; Jacobs, W.; *J. Liq. Chrom.* **8(15)** (1985) 2845-2870
- [7] Ofner, B.; Wintersteiger, R.; *Anal. Chim. Acta* **305** (1995) 318-323
- [8] Joshua, H.; *J. Chromatogr. A* **654** (1993) 247-254
- [9] Tess, D.A.; Cole, R.O.; Toler, S.M.; *J. Chromatogr. B* **674** (1995) 253-260
- [10] Schmid, R.W.; Wolf, C.; *J. Chromatogr.* **478** (1989) 369-377
- [11] Di Pietra, A.M.; Andrisano, V.; Gotti, R.; Cavrini, V.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **14** (1996) 1191-1199
- [12] Poulsen, J.R.; Birks, J.W.; Photochemical Reaction Detection in HPLC, In: Birks, J.W. (ed.); *Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography*, New York, VCH (1989)
- [13] Suzuki, S.; Nakazawa, H.; Fujita, M.; Ono, S.; Suzuki, M.; Takitani, S.; Sonoda, M.; Sakigashi, Y.; *Anal. Chim. Acta* **261** 39-43
- [14] Volmer, D.A.; *J. Chrom. A* **794** (1998) 129-146
- [15] Scholten, A.H.M.T.; Welling, P.L.M.; Brinkman, U.A.T.; Frei, R.W.; *J. Chromatogr.* **199** (1980) 239-248
- [16] Salamoun, J.; Smrz, M.; Kiss, F.; Salamounova, A.; *J. Chromatogr.* **419** (1987) 213-223
- [17] Müller, H.; Automatisierung von Analysenverfahren, In: Doerffel, K.; Geyer, R.; Müller, H.; (ed.), *Analytikum*, 9. Auflage, Leipzig, Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie (1994) 588-599
- [18] Möller, J.; Flow Injection Analysis, In: Borsdorf, R.; Fresenius, W.; Günzler, H.; Huber, W.; Lüderwald, I.; Keller, W.; Tölg, G.; Wissner, H. (eds.); *Analytiker Taschen buch*, Band 7, Berlin, Springer-Verlag (1987) 199-268
- [19] Valcarcel, M.; Luque de Castro, M.D. (eds.); *Flow Injection Analysis: principles and application*, Chichester, Ellis Horwood (1987)

- [20] Ruzicka, J.; Hansen, E.H. (eds.); *Flow Injection Analysis*, New York John Wiley & Sons (1981)
- [21] Taylor, G.; *Proc. R. Soc. London. Ser. A* **78** (1975) 186-195
- [22] Deelder, R.; Kuijpers, S.; van den Berg, A.T.J.M.; *J. Chromatogr.* **255** (1983) 545-551
- [23] Tijssen, R.; *Sep. Sci. Technol.* **13(8)** (1978) 681-722
- [24] Hofmann, K.; Halasz, I.; *J. Chromatogr.* **173** (1979) 211-228
- [25] Engelhardt, H.; Neue, U.D.; *Chromatographia* **15(7)** (1982) 403-408
- [26] Hatchard, C.G.; Parker, C.A.; *Proc. Roy. Soc. (London)* **A235** (1956) 518-836
- [27] Bowman, W.D.; Demas, J.N.; *J. Phys. Chem.* **80** (1976) 2434-2435
- [28] Nicodem, D.E.; Aquilera, O.M.V.; *J. Photochem.* **21** (1983) 189-193
- [29] Murov, S.L.; Carmichael, I.; Hug, G.L.; *Handbook of Photochemistry*, 2 nd ed., New York Marcel Dekker, Inc. (1993)
- [30] Moore, W.M.; Ketchum, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **84** (1962) 1368-1371
- [31] Saltiel, J.; Marinari, A.; Chang, D.W.L.; Mitchener, J.C.; Megaratiy, E.D.; *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979) 2982-2995
- [32] Yoshioka, S.; Ishihara, Y.; Terazono, T.; Tsunakawa, N.; Muai, M.; Yasuda, T.; Kitamuro, Kunihiro, Y.; Sakai, K.; Hirose, Y.; Tonooka, K.; Takayama, K.; Imai, F.; Godo, M.; Matsuo, M.; Nakamura, K.; Aso, Y.; Kojima, S.; Takeda, Y.; Terao, T.; *Drug Dev Ind Pharm* **20(13)** (1994) 2049-2062
- [33] Perbet, G.; Coulangeon, L.M.; Boule, P.; Lemaire, J.; *J. Chim. phys.* **75** (1978) 1096-1104
- [34] Bunce, N.J.; LaMarre, J.; Vaish, S.P.; *Photochem. Photobiol.* **39(4)** (1984) 531-533
- [35] Gauglitz, G.; *J. Photochem.* **5** (1976) 41-47
- [36] Defoin, A.; Defoin-Straatmann, R.; Hildenbrand, K.; Bittersmann, E.; Kreft, D.; Kuhn, H.J.; *J. Photchem.* **33** (1986) 237-255
- [37] Heller, J.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **341** (1981) 341-345
- [38] Thomas, L.B.; *J. Am. Chem. Soc.* **62** (1940) 1879-1880
- [39] Zhang, J.Y.; Esrom, H.; Boyd, I.W.; *Appl. Surf. Sci.* **(138-139)** (1999) 315-319
- [40] Calvert, J.G.; Rechen, H.J.L.; *J. Am. Chem. Soc.* **74** (1952) 2101-2103
- [41] Sanchez-Pedreno, C.; Perez-Ruiz, T.; Martinez-Lozano, C.; Hernandez-Cordoba, M.; *Anal. Chim. Acta* **104** (1979) 397-402
- [42] Wegner, E.E.; Adamson, A.W.; *J. Am. Chem. Soc.* **88(3)** (1966) 394-404
- [43] Driscoll, J.N.; Warneck, P.; *Photochem. Photobiol.* **13** (1971) 283-287

- [44] Brauer, H.-D.; Schmidt, R.; Gauglitz, G.; Hubig, S.; *Photochem. Photobiol.* **37(6)** (1983) 595-598
- [45] Moore, D.E.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **5(5)** (1987) 441-453
- [46] Schauder, S.; Schrader, A.; Ippen, H.; *Göttinger Liste: Sonnenschutzkosmetik in Deutschland*, 3. Auflage Berlin, Berliner Medizinische Verlagsanstalt (1994)
- [47] The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food products intended for Consumers, *Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation* (third revision) (SCCNPF/0119/99)
- [48] International Conference on Harmonisation Guidelines for the Photostability Testing of New Drug Substances and Products, Departement of Health and Human Services, Food and Drug Administration, *Federal Register* **Vol.62. No.95** (1997)
- [49] Allen, J.M.; Gossett, C.J.; Allen, S.K.; *Chem. Res. Toxicol.* **9** (1996) 605-609
- [50] Flindt-Hansen, H.; Nielsen, C.J.; Thune, P. *Photodermatol.* **5** (1988) 257-261
- [51] Vanquerp, V.; Rodriguez, C.; Coiffard, C.; Coiffard, L.J.M.; De Roeck-Holtzhauser, Y.; *J. Chrom. A* **832(1-2)** (1999) 273-277
- [52] Schwack, W.; Rudolph, T.; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **28** (1995) 229-234
- [53] Shaw, A.A.; Wainschel, L.A.; Shetlar, M.D.; *Photochem. Photobiol.* **55(5)** 647-656
- [54] Schrader, A.; Jakupovic, J.; Baltes, W.; *Tetrahedron Lett.* **35(8)** (1994) 1169-1172
- [55] Andrae, I.; Bringham, A.; Böhm, F.; Gonzenbach, H.; Hill, T.; Mulroy, L.; Truscott, T.G.; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **37** (1997) 147-150
- [56] Tobita, S.; Ohba, J.; Nakagawa, K.; Shizuka, H.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **92** (1995) 61-67
- [57] Chignell, C.F.; Kalyanaraman, B.; Sik, R.H.; Mason, R.P.; *Photochem. Photobiol.* **34** (1981) 147-156
- [58] Marti-Mestres, G.; Fernandez, C.; Parsotam, N.; Nielloud, F.; Mestres, J.P.; Maillols, H.; *Drug Dev. Ind. Pharm.* **23(7)** (1997) 647-655
- [59] Deflandre, A.; Lang, G.; *Cosmet. Toiletries* **103** (1988) 69-75
- [60] Diffey, B.L.; Stokes, R.P.; Forestier, S.; Mazillier, C.; Rougier, A.; *Eur. J. Dermatol.* **7(3)** (1997) 226-228
- [61] Pearse, A.D.; Edwards, C.; *J. Cosmet. Sci.* **15** (1993) 234-244
- [62] Marginean, G.; Fructus, A.E.; Marty, J.P.; Arnaud-Battandier, J.; *Int. J. Cosmet. Sci.* **17** (1995) 233-243
- [63] Rothman, S.; Rubin, J.; *J. Invest. Dermatol.* **5** (1942) 445-457
- [64] Hodges, N.D.M.; Moss, S.H.; Davies, D.J.G.; *Photochem. Photobiol.* **26** 493-498
- [65] Sutherland, B.M.; *Photochem. Photobiol.* **36** 95-97

- [66] Sutherland, J.C.; Griffin, K.P.; *Photochem. Photobiol.* **40**(3) (1984) 391-394
- [67] Rutherford, C.E.; Salter, L.F.; Thomas, R.C.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **52** (1990) 337-343
- [68] Aliwell, S.R.; Martincigh, B.S.; Salter, L.F.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **71** (1993) 147-153
- [69] Gasparro, F.P. *FEBS* **336** (1993) 184-185
- [70] Gasparro, F.P.; *Photoderm.* **2** (1985) 151-157
- [71] Langford, S.A.; Sugden, J.K.; Fitzpatrick, R.W.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **14** (1996) 1615-1623
- [72] Roscher, N.M.; Lindemann, M.K.O.; Kong, S.B.; Cho, C.G.; Jiang, P.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **80** (1994) 417-421
- [73] Kammeyer, A.; Westerhof, W.; Bolhuis, P.A.; Ris, A.J.; Hische, E.A.; *Int.J. Cosmetic Science* **9** (1987) 125-136
- [74] Deflandre, A.; Lang, G.; *Int. J. Cosmet. Sci.* **10** (1988) 53-62
- [75] Pickett, J.E.; Moore, J.E.; *Polym. Degrad. Stab.* **42** (1993) 231-244
- [76] Schallreuter, K.U.; Wood, J.M.; Farwell, D.W.; Moore, J.; Edwards, H.G.M.; *J. Invest. Dermatol.* **106**(3) (1996) 583-586
- [77] Rapp, C.; Heinsohn, G.; Hintze, U.; *J. Liq. Chromatogr.* **110** (1998) 97
- [78] Molière, P.; Avicet, O.; Melo, S.E.; Dubertret, L.; Giraud, M.; Santus, R.; *Photochem. Photobiol.* **36** (1992) 395-399
- [79] Klessinger, M.; Michl, J.; *Excited States and Photochemistry of Organic Molecules*. New York, VCH Publishers (1995) 362-376
- [80] Meier, H.; cis-trans isomerisierungen der C=C Doppelbindung In: Müller, G.; Houben, J. (eds); *Methoden der organischen Chemie*, **4. 5a Photochemie**, Stuttgart. Georg Thieme Verlag, (1975) 189-221
- [81] Bayer, H.; Walter, W.; *Lehrbuch der organischen Chemie* 22. Auflage, Stuttgart, S. Hirzel Verlag. (1991) 393
- [82] Broadbent, J.K.; Martincigh, B.S.; Raynor, M.W.; Salter, L.F.; Moulder, R.; Sjöberg, P.; Markides, K.E.; *J. Chrom. A* **732** (1996) 101-110
- [83] Schrader, A.; Jakupovic, J.; Baltes, W.; *J. Soc. Cosmet. Chem.* **45** (1994) 43-52
- [84] Mohammad, T.; Baird, W.M.; Morrison, H.; *Bioorg. Chem.* **19** (1991) 88-100
- [85] Shaath, N.A.; Fares, H.M.; Klein, K.; *Cosm. and Toiletries* **105** (1990) 41-44
- [86] Moneyron, H.; Arnaud, R.; Lemaire, J.; Deflandre, A.; Goetz, M.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **75** (1993) 77-82
- [87] Beck, I.; Deflandre, A.; Lang, G.; Arnaud, R.; Lemaire, J.; *Int. J. Cosmetic Science* **3** (1981) 139-152

- [88] Douarre, L.; Arnaud, R.; Lemaire, J.; Deflandre, A.; Richard, H.; *Photochem. Photobiol. A: Chem.* **87** (1995) 143-150
- [89] Bunting, J.W.; Kanter, J.P.; Nelander, R.; Wu, Z.; *Can. J. Chem.* **73** (1995) 1305-1311
- [90] Dubois, M.; Gilard, P.; Tiercet, P.; Deflandre, A.; Lefebvre, M.A.; *J. Chim. Phys.* **95** (1998) 388-394
- [91] Yankov, P.; Saltiel, S.; Petrov, I.; *Chem. Phys. Letters* **128(5.6)** (1986) 517-520
- [92] Berset, G.; Gonzenbach, H.; Christ, R.; Deflandre, A.; Mascotto, R.E.; Jolley, J.D.R.; Lowell, W.; Pelzer, R.; Stiehm, T.; *Int J Cosm Sci* **18** (1996) 167-177
- [93] Weber, S.G.; *J. Electroanal. Chem.* **145** (1983) 1-7
- [94] van der Linden, W.E.; Diekker, J.W.; *Anal. Chim. Acta* **119** (1980) 1-24
- [95] Perkampus, H.H.; Lexikon Spektroskopie, Weinheim, VCH (1993)
- [96] Moore, D.E.; Standardization of photodegradation studies and kinetic treatment of photochemical reactions, In: Tonneson, H. (ed.); *The Photostability of Drugs and Drug Formulations*, London, Taylor & Francis Ltd., (1996) 63-82
- [97] McHale, D.; Laurie, W.A.; Sheridan, J.B.; *Tetrahedron* **45(7)** (1989) 2127-2130
- [98] Unger, K.K. (Hrsg.); Handbuch der HPLC - Teil 1, Darmstadt, GIT Verlag (1989)
- [99] Europäisches Arzneibuch 1997 3. Auflage Detscher Apotheker Verlag Stuttgart, Govi-Verlag, Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn (1997)
- [100] Sachs, L.; Angewandte Statistik, 7. Auflage, Berlin, Axel Springer Verlag (1992)
- [101] Wätzig, H.; Statistische Qualitätskontrolle, In: Nürnberg, E.; Surmann, P. (Hrsg.); *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Band 2 (Methoden)*. 5. Auflage, Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag (1991) 1048-1084
- [102] Doerffel, K. (Hrsg.); *Statistik in der analytischen Chemie*, 5. Auflage, Leipzig Dt. Verl. für Grundstoffind., (1990)
- [103] Scholten, A.H.M.T.; Brinkman, U.A.T.; *Anal. Chim. Acta* **114** (1980) 137-146
- [104] Bauer, K.H.; Frömming, K.H.; Führer, C.; *Pharmazeutische Technologie*, 3. neu bearb. Auflage, Stuttgart, Thieme-Verlag, (1991)
- [105] Hofmann, D.; Leuchtstofflampen, In: Osram GmbH (Hrsg.), *Taschenbuch der Lampentechnik*, Berlin, Springer Produktions-Gesellschaft (1987) 117-132
- [106] Industrieverband Körperpflege- und Waschmittel e.V.; Die Methode zur Bestimmung des Lichtschutzfaktors, 1. Auflage, Frankfurt am Main, Druck-Konzept (1995)
- [107] Sayre, R.M.; Cole, C.; Billhimer, W.; Stanfield, J.; Ley, R.D.; *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, **7** (1990) 159-165

- [108] Boxhammer, M.; Technical requirements and equipment for photostability testing, In: Tonneson, H. (ed.); *The Photostability of Drugs and Drug Formulations*, London. Taylor & Francis Ltd., (1996) 39-62
- [109] Surmann, J.P. *Fresenius Zeitschrift für analytische Chemie* **316** (1983) 373-381
- [110] Schwack, W.; Rudolph, T.; *GIT Fachz. Lab.* **4** (1996) 373-377
- [111] Tanojo, H.; Junginger, H.E.; Bodde, H.E.; *Europ. J. Pharm. Sci.* **5** (1997) 31-35
- [112] Robinson, R.A.; Biggs, A.I.; *Australian J. of Chem.* **10** 1957 128-132
- [113] Shaath, N.A.; *J. Soc. Cosmet. Chem.* **82** (1987) 193-207
- [114] v. Bruchhausen, F.; Ebel, S.; Frahm, A.W.; Hackenthal, E. (Hrsg.); *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis* Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag (1993)
- [115] Meier, H.; Kinetische Analyse von Photoreaktionen mit Hilfe der E-, ED- und EDQ-Diagrammen In: Müller, G.; Houben, J. (eds); *Methoden der organischen Chemie* **4. 5a Photochemie** Stuttgart, Georg Thieme Verlag (1975) 189-221
- [116] Matsoura, I.; Imaizumi, M.; Sugiyama, M.; *Chem. Pharm. Bull.* **38** (1990) 1692-1696
- [117] Elbicki, J.M.; Morgan, D.M.; Weber, S.G.; *Anal. Chem.* **56** (1984) 978 - 985
- [118] Tripathi, G.N.R.; Su, Y.; *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 2235-2244
- [119] Brown, K.C.; Corbett, J.F.; *J. Chem. Soc. Perkin II* **1** (1979) 308-311
- [120] Joshi, H.C.; Mishra, H.; Tripathi, H.B.; *J. Photochem. Photobiol.* **105** (1997) 15-20
- [121] Soltermann, A.T.; de la Pena, D.; Nonel, S.; Amat-Guerri, F.; Garcia, N.A.; *Polym Deg Stab* **49** (1995) 371-378
- [122] Batycka, H.; Lukaszewski, Z.; *Anal. Chim. Acta.* **62** (1984) 207-214
- [123] Hagemann, J.; Fries-Umlagerungen In: Müller, G.; Houben, J. (eds); *Methoden der organischen Chemie* **4. 5a Photochemie**, Stuttgart, Georg Thieme Verlag (1975) 189-221
- [124] Pincock, A.; The Photochemistry of Carboxylic Acids In: Horspool, W.M.; Song, P.S. (eds.); *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, Boca Raton, CRC Press. Inc. (1995) 393-407
- [125] Abidi, S.L.; *J. Liq. Chromatogr.* **12** (1989) 595-611
- [126] Gagliardi, L.; Amato, A.; Basilli, A.; Cavazzatti, G.; Gattavecchia, E.; Tonelli, D.; *J. Chromatogr.* **362** (1986) 450-454
- [127] Carlson, M.; Thompson, R.D.; *J. Liq. Chromatogr.* **10** (1987) 997-1009
- [128] Szoke, A.; Hayton, W.L.; Schultz, I.R.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **16** (1997) 69-75
- [129] Schmidt, T.C.; Petersmann, M.; Kaminski, L.; v.Löw, E.; Stork, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **357** (1997) 121-126

- [130] Ito, S.; Maruta, K.; Imai, Y.; Ito, M.; Nakajima, S.; Keisuke, F.; Kurahashi, T.;
Clin Chem **28** (1982) 323-326
- [131] Lindsay, R.M.; McLaren, A.M.; Baty, J.D.; *J. Chromatogr.* **433** (1988) 292-297
- [132] Yung-Jato, L.L.Y.; Durie, P.R.; Soldin, S.J.; *Clin. Chem.* **34** (1988) 2235-2238
- [133] Surmann, P.(Hrsg.); *Quantitative Analyse von Arzneistoffzubereitungen*;
Stuttgart, Wiss. Verl-Ges. (1987)
- [134] FDA, Validation of Chromatographic Methods, Reviewer Guidance, November 1994
- [135] International Conference on Harmonisation (ICH), Note for Guidance on Validation
of Analytical Procedures, Departement of Health and Human Services, Food and
Drug Administration, *Federal Register* **Vol.60, No.40** (1995)
- [136] Eurachem, The Fitness for Purpose of Analytical methods: A laboratory Guide to
Method Validation and Related Topics, 1. Auflage, Teddington, 1998
- [137] Green, J.M.; *Anal. Chem.* **68** (1996) 305-309
- [138] Mattusch, J.; Müller, H.; Werner, G.; *Pharmazie* **46** (1991) 171-179

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, Suzan Parlar, geboren am 09.04.1970 in Berlin, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe erstellt habe.

Berlin, den 12.05.00

.....